Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. H. A. Hirsch

Radioimmunologische Bestimmung des 5α-Pregnan-3,20- Dion im peripheren Venenblut eines Normalkollektivs schwangerer Frauen von der 22.-42. Schwangerschaftswoche

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
FLORIAN C. BOPP
aus Stuttgart

1984

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. H. A. Hirsch

Radioimmunologische Bestimmung des 5α-Pregnan-3,20- Dion im peripheren Venenblut eines Normalkollektivs schwangerer Frauen von der 22.-42. Schwangerschaftswoche

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
FLORIAN C. BOPP
aus Stuttgart

1984

Dekan:	Professor Dr. D. Plester
1. Berichterstatter:	Professor Dr. A. E. Schindler
2. Berichterstatter:	Privat-Dozent Dr. Dr. W. Müller-Schauenburg

Druck: Zeeb-Druck, Tübingen 7 (Hagelloch)

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	EINLEITUNG	1
2.	METHODEN	
2.1.	Auswahl der Proben des Normalkollektivs	3
2.2.	Gewinnung der Patientenseren	4
2.3.	Bestimmung des 5α-Pregnan-3,20-dion	
2.3.1.	Extraktionsvolumen	4
2.3.2.	Bestimmung der individuellen Wiederfindung	5
2.3.3.	Hormonextraktion	5
2.3.4.	Säulentrennung	6
2.3.5.	Aufnahme des extrahierten 5α-Pregnan-3,20-dion	7
2.3.6.	Kontrollen	8
2.3.7.	Radioimmunoassay	
2.3.7.1.	Standardkonzentrationen	8
2.3.7.2.	Verdünnung des markierten Hormons	8
2.3.7.3.	Antiserumherstellung	9
2.3.7.4.	Bestimmung der Kreuzreaktionen des Antikörpers	9
2.3.7.5.	Antiserumverdünnung	10
2.3.7.6.	Durchführung des Radioimmunoassays	10
2.4.	Bestimmung des Östriols und Humanen Placentaren Lactogens	14
2.5.	Auswertung	
2.5.1.	Bestimmung und Umrechnung der Zählausbeuten	14
2.5.2.	Übertragung der Patientendaten auf Computerkarten	14

Seite

2.5.3. Statistische Auswertung 14

3. MATERIAL

3.1. Geräte 16

3.2. Chemikalien 16

3.3. Lösungen 17

4. ERGEBNISSE

4.1. Kreuzreaktionen des Antikörpers 110/5 19

4.2. Säulentrennung von 5α-Pregnan-3,20-dion und Progesteron 19

4.3. Qualitätskontrolle der 5α-Pregnan-3,20-dion-Bestimmung 22

4.4. Bestimmung des Antikörpertiters für das Antiserum 110/5 23

4.5. Abhängigkeit der Nullbindung von der Inkubationsdauer des Radioimmunoassays 23

4.6. Mittelwerte, Standardabweichung und Standardfehler des Mittelwerts von Östriol, HPL und 5α-DHP in Abhängigkeit vom Gestationsalter beim Normalkollektiv 24

4.7. Charakterisierung des Normalkollektivs mit Hilfe der Östriol- bzw. HPL-Werte 26

4.8. Individuelle Verläufe der drei Hormonkonzentrationen am Beispiel einzelner Patientinnen 31

4.9. Untersuchung der Einflüsse mütterlicher Parameter auf die Hormonkonzentrationen

4.9.1. Alter der Mutter bei der Niederkunft 33

4.9.2. Einfluß der Parität 33

4.10. Untersuchung der Einflüsse kindlicher Parameter auf die Hormonkonzentrationen

4.10.1. Geburtsgewicht des Kindes 36

Seite

4.10.2. Länge des Neugeborenen 36
4.10.3. Geschlecht des Neugeborenen 36

5. DISKUSSION 41

6. ZUSAMMENFASSUNG 48

7. LITERATURVERZEICHNIS 49

ABKÜRZUNGEN

E_3	=	freies Östriol
HPL	=	Human Placental Lactogen
5α-DHP	=	5α-Dihydroprogesteron = 5α-Pregnan-3,20-dion
RIA	=	Radioimmunoassay
SSW	=	Schwangerschaftswoche
RR	=	nach der Methode von Riva Rocci bestimmter Blutdruck
GP	=	Gelatinepuffer
T	=	Tracer = radioaktiv markiertes Hormon
cpm	=	counts per minute = Zählausbeute pro Minute
SD	=	Standard Deviation = Standardabweichung
SEM	=	Standard Error of the Mean = Standardfehler des Mittelwerts
n	=	Anzahl der Proben
BSA	=	Rinderserumalbumin

1. EINLEITUNG

In den letzten Jahren konnte in zunehmendem Maße dem schon seit langem bestehenden Interesse, mehr über Gedeihen und Wohlergehen des Feten in utero zu erfahren, durch die Entwicklung moderner Untersuchungsmethoden Rechnung getragen werden.

Die Notwendigkeit, nach Parametern für die intrauterine Überwachung der fetalen Entwicklung zu suchen, wird durch die Tatsache bekräftigt, daß ca. 70% der perinatal verstorbenen Neugeborenen nicht durch den Geburtsvorgang ansich geschädigt wurden, sondern entweder Frühgeburten oder untergewichtig waren (LANG et al., 1977).

Außer den modernen Untersuchungsverfahren wie die Ultraschallbiometrie und das Cardiotogogramm kommen heute biochemisch-endokrine Methoden zur Anwendung, die es erlauben, frühzeitig Informationen über den Zustand der fetoplazentaren Einheit und damit über den Verlauf der Schwangerschaft zu bekommen. Die niedrigen Konzentrationen der hierfür infrage kommenden Substanzen erlauben erst seit Entwicklung radioimmunologischer Verfahren genaue, schnelle und spezifische Untersuchungen. Heute können für folgende Moleküle Plasma- oder Urinkonzentrationen mit Hilfe nuklearmedizinischer in vitro-Bestimmungsmethoden untersucht werden:

- Östriol (frei oder gesamt in Serum oder Urin)
- Immunglobulin G
- Chorion Gonadotropin (HCG)
- Progesteron
- α-Fetoprotein (AFP)
- Lecithin
- Testosteron
- Humanes Plazenta Lactogen (HPL)
- L/S Verhältnis
- ß-2-Glykoprotein
- Folsäure
- Vitamin B_{12}
- Cortisol

Ein wichtiges Problem der Schwangerschaftsbetreuung stellt das Auftreten einer EPH-Gestose dar. Dieses mit Ödemen, Proteinurie und Bluthochdruck einhergehende Syndrom, das in der BRD mit einer Wahrscheinlichkeit von 8-10% auftritt, kann beim Übergang in eine Eklampsie zu schwerwiegenden Folgen für Mutter und Kind führen. Nach FRIEDBERG (1965) sterben 20 bis 40% der Neugeborenen, deren Mütter an einer EPH-Gestose erkrankt waren.

Die Pathogenese dieses Syndroms konnte trotz weltweiter Forschungsbemühungen nur unvollständig aufgeklärt werden (PARKER et al. 1979), sodaß eine kausale Therapie bis heute noch nicht möglich ist. SAMMOUR et al. gelang es jedoch 1975 das klinische Bild von 80% der von ihnen behandelten Gestosepatientinnen durch i.m.-Gabe von 200 mg Progesteron/Tag zu verbessern. Untersuchungen von EVERETT et al. (1978) deuteten darauf hin, daß nicht das Progesteron selbst, sondern das 5α-Dihydroprogesteron, ein Progesteronmetabolit für die therapeutischen Erfolge verantwortlich war. Danach konnte man spekulieren, daß ein Mangel an 5α-DHP in ursächlichem Zusammenhang mit der Entstehung eines EPH-Sydroms stehen könnte.

Um diese Fragestellung weiter zu verfolgen, wurde in der vorliegenden Arbeit als Grundlage für weitere Untersuchungen der Konzentrationsverlauf des 5α-DHP in einem Kollektiv bestimmt, das nach allen zur Verfügung stehenden Parametern als Normalkollektiv angesehen werden konnte. Hierfür wurde die von MILEWICH et al. 1975 erarbeitete radioimmunologische Bestimmungsmethode in einigen Punkten verbessert.
Die gemessenen Werte wurden dem Verlauf des Östriols und des HPL's , die bereits routinemäßig zur Schwangerschaftsüberwachung dienen, gegenübergestellt.

2. METHODEN

2.1. Auswahl der Proben des Normalkollektivs

Die Zusammenstellung des Normalkollektivs erfolgte nach den Kriterien, die von RODECK et al. 1976 aufgestellt worden waren.

Die Anamnese der aufgenommenen Schwangeren bot keinen Anhalt für allgemeine Erkrankungen, Mehrlingsschwangerschaften wurden ausgeschlossen.

Bei sämtlichen Kontrollen während der Schwangerschaft waren Blutdruck, Gewichtszunahme und der Urinbefund der Schwangeren sowie die sonographisch festgestellte Größe des Feten im Normbereich.

Die Geburt erfolgte in der 38.-41. Schwangerschaftswoche, es wurden nur Lebendgeborene berücksichtigt, die mindestens 2500 g wogen.

Insgesamt wurden 415 Patientenseren so eingeteilt, daß sich für die 22. bis 41. Schwangerschaftswoche jeweils 18 bis 20 Seren ergaben.

Um auch die Werte des 5α-Pregnandion bei Übertragung des Feten untersuchen zu können, wurde darüberhinaus ein Kollektiv von 20 Patientinnen in der 42. Schwangerschaftswoche zusammengestellt.

2.2. Gewinnung der Patientenseren

Das den Patientinnen zwischen 8 und 9 Uhr morgens abgenommene Venenblut wurde in heparinisierten Röhrchen 10 Minuten lang bei 1200 g zentrifugiert (3).

Das Plasma wurde bis zum Gebrauch bei -20°C aufbewahrt.

[Die Zahlen in runden Klammern im Methodikteil geben die Nummern an, unter denen die verwendeten Geräte und Chemikalien im Materialteil beschrieben werden].

2.3. Bestimmung des 5α-Pregnandion

2.3.1. Extraktionsvolumen

Da die Standardkurve des Radioimmunoassays (RIA) nur in einem begrenzten Bereich linear verläuft, konnten nicht für alle Proben die gleichen Extraktionsvolumina gewählt werden.

In Vorversuchen wurde festgestellt, daß die Konzentration des 5α-Pregnandion (5α-DHP) von ca. 10 ng in der 22. Schwangerschaftswoche bis ca. 50 ng in der 40. Schwangerschaftswoche ansteigt. Daher wurde das Extraktionsvolumen für die Hormonbestimmungen in der 22.-30. SSW mit 500 µl und für die der 31.-42. Schwangerschaftswoche mit 200 µl angesetzt. Die sich daraus ergebenden Verdünnungen der Hormonlösung führten zu Konzentrationen, die im linearen Bereich der RIA-Eichkurve lagen.

2.3.2. Bestimmung der individuellen Wiederfundung

Um die während der Extraktions verlorengegangene Hormonmenge zu bestimmen, wurde den Plasmaproben vor der Extraktion eine bekannte Menge an radioaktiv markiertem, in Äthanol gelöstem 5α-DHP zugesetzt, 10 Minuten auf dem Multivortexer (1) geschüttelt und 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert.

Die Konzentration des markierten Hormon wurde mit ca. 2000 cpm pro Probe so niedrig gewählt, daß sie eine Wiederfindung ermöglichte, ohne im nachfolgenden RIA das Ergebnis zu beeinflussen.

Nach der Extraktion wurde die Hälfte der Probe in Zählgläschen mit 10 ml Szintillationsflüssigkeit (16) überführt und die Restaktivität im Szintillationszähler (2) durch Vergleich mit der Ausgangsaktivität bestimmt.

2.3.3. Hormonextraktion

Zur Extraktion der Steroide wurden die Proben mit jeweils 4 ml Diäthyläther (13) versetzt und 10 Minuten auf dem Multivortexer (1) geschüttelt. Um die beiden Phasen zu trennen, wurde zunächst 15 Minuten bei 1200 g und 4°C zentrifugiert (3) und die wässrige Phase im Acetonbad bei -2o°C eingefroren. Die steroidhaltige Ätherphase wurde abgekippt und im Wasserbad bei 37°C unter Stickstoffbegasung abgedampft. Das u.U. am Glasrand verbliebene Material wurd mit 500 µl Diäthyläther (13) heruntergespült, eine Minute auf dem Multivortexer (1) geschüttelt und nochmals abgedampft.

Um die Steroidhormone säulenchromatographisch trennen zu können, wurden die Festsubstanzen in 200 µl Isooctan (14) aufgenommen und die Lösung 2 Minuten lang auf dem Multivortexer (1) geschüttelt.

2.3.4. Säulentrennung

Die chromatographische Trennung von Progesteron und 5α-Pregnandion erfolgte in Säulen (4) mit einem Innendurchmesser von 0,45 cm und einer Höhe von 18,4 cm, an deren Auslauf ein Polypropylen-Filter eingepaßt war.

Das Säulenmaterial (19) wurde nach der Vorschrift der Fa. bio Merieux (Lyon), modifiziert nach ZWIRNER (mündliche Mitteilung) in die Säulen gefüllt. Hierzu wurden die Säulen zunächst in einer Höhe von 3,5, 5,4, 7,3 bzw. 9,2 cm, vom Filterboden an gemessen, markiert. Dann wurde das Chromatolithe locker bis zur 2. Markierung eingefüllt und, während die Säule nach oben gehalten wurde, unter leichtem Druck mit einem Glasstab bis zur 1. Markierung zusammengepreßt.

Dieser Vorgang wurde 2 mal wiederholt, so daß sich am Ende insgesamt 1,6 g Chromatolithe in einer Höhe von 7,3 cm in der Säule befanden.

Vor Gebrauch wurden die Säulen mit 15 ml Isooctan (14) äquilibriert.

In Vorversuchen wurden die Elutionsfraktionen, in denen 5α-Pregnandion bzw. Progesteron enthalten waren, mit Hilfe radioaktiv markierter Hormonlösungen (10, 11) festgestellt.

Zur Trennung der extrahierten Steroide wurden die 200 µl Isooctanlösung (siehe 2.3.3.) auf die Säule aufgetragen. Um möglichst die gesamte Hormonmenge auf die Säule aufzubringen, wurden die Gläschen noch zweimal mit je 200 µl Isooctan (14) versetzt, 2 Minuten auf dem Multivortexer (1) geschüttelt und das Isooctan wiederum auf die Säule aufgegeben. Daraufhin wurden 1,4 ml Isooctan direkt auf die Säule aufgetragen. Der Vorlauf betrug also insgesamt 2 ml und wurde verworfen, da er keine Aktivität enthielt.

Mit weiteren 1,5 ml Isooctan wurde das 5α-Pregnandion eluiert und in Glasröhrchen aufgefangen.

2.3.5. Aufnahme des extrahierten 5α-DHP

Zur Durchführung des Radioimmunoassays mußte das 5α-DHP in ein geeignetes Puffersystem überführt werden.

Aus diesem Grund wurde zunächst das Isooctan bei 37°C unter Stickstoffbegasung abgedampft. Um die Ablösung des lipophilen Steroids vom Glasrand zu verbessern, wurden 200 µl 75% Äthanol (15) zugesetzt und die Proben 10 Minuten auf dem Multivortexer (1) geschüttelt. Vorversuche hatten ergeben, daß die hierdurch in den RIA eingehende Endkonzentration des Äthanol keinen Einfluß hat.

Danach wurden die Proben mit 1,8 bzw. 3,8 ml Gelatinepuffer (20) je nach zu erwartender Hormonmenge so verdünnt, daß die späteren Konzentrationen im linearen Bereich der Standardkurve des RIA lagen (s. auch 2.3.1.).

2.3.6. Kontrollen

Zur Qualitätskontrolle wurden bei jedem Ansatz Plasmaproben mit bekannter 5-α-Pregnandion-Konzentration mitgemessen.

Dazu wurde 5-α-Pregnandion in kristalliner Form (12) steroidfreiem Plasma in solchen Mengen zugesetzt, daß sich Endkonzentrationen von 10, 20, 30, 50 bzw. 60 mg/ml ergaben.

Zur Herstellung des steroidfreien Plasmas wurden 500 ml Plasmakonserve mit 50 g Aktivkohle (18) versetzt und eine Stunde auf dem Rotator(5) vermischt. Die steroidbindende Aktivkohle wurde bei 20 000 g eine Stunde lang zentrifugiert (6) und das Plasma abpipettiert.

2.3.7. Radioimmunoassay

2.3.7.1. Standardkonzentrationen

Zur Erstellung der Standardeichkurve wurde durch Einwiegen des kristallinen Hormons (12) in Gelatinepuffer (20) eine Stammlösung von 1000 ng/100 µl angesetzt. Durch eine Verdünnungsreihe wurden Endkonzentrationen von 500, 200, 100, 50 bzw. 20 ng/100 µl hergestellt.

2.3.7.2. Verdünnung des markierten Hormons

Das markierte Hormon (10) war nach Herstellervorschrift gelöst und dann in 25 ml Äthanol (15) überführt worden. Die im RIA eingesetzte Konzentration wurde so gewählt, daß 100 µl ca. 8 000 counts pro Minute (cpm) ergaben. Hierzu wurde die Stammlösung 1:100 mit Gelatinepuffer (20) verdünnt.

2.3.7.3. Antiserumherstellung

Als Hapten wurde 6α-Carboxyäthylmercaptoprogesteron-BSA verwendet.

Weiße Neu Seeland Hasen im Alter von 3 Monaten wurden zur Produktion des Antikörpers angeregt. Hierzu wurden identische Volumina des o.g. Konjugats in 0,9% NaCl-Lösung mit Complete Freund's Adjuvant (17) versetzt, so daß die Endkonzentration des Antigens 0,5 mg/ml betrug. Insgesamt 2 ml der antigenhaltigen Emulsion wurden den Hasen subkutan an 5 verschiedenen Stellen des Rückens sowie intramuskulär in eine Pfote injiziert.

Booster-Injektionen wurden in 3-wöchigen Abständen durchgeführt.

Die erste Blutabnahme erfolgte nach 2 Monaten, dann in monatlichen Abständen aus einer Ohrvene. Das heparinisierte Blut wurde bei Raumtemperatur und 1 200 g 10 Minuten lang zentrifugiert (3).

Der Antikörpertiter wurde bestimmt, indem für die Verdünnungen 1:100, 1:500 und 1:1000 jeweils eine Nullbindung (d.h. die Bindung, die man erhält, wenn kein unmarkiertes Hormon um die Antikörperbindungsstellen konkurriert) mit titriertem, radioaktiv markiertem Hormon (10) erstellt wurde. So konnte die Antikörperverdünnung ermittelt werden, bei der die Bindung ca. 40% betrug.

Für den RIA wurde der aus dem Hasen N 110 isolierte Antikörper verwendet.

2.3.7.4. Bestimmung der Kreuzreaktionen des Antikörpers

Die Kreuzreaktionen des Antikörperserums 110/5 mit 24

Steroidhormonen wurde nach DE LAUZON et al. [1975] berechnet:

$$\text{Kreuzreaktion} = \frac{\text{\% Verdrängung durch 1 ng Steroid}}{\text{\% Verdrängung durch 1 ng 5-α-DHP}} \times 100\%$$

2.3.7.5. Antiserumverdünnung

Das antikörperhaltige Plasma wurde mit Gelatinepuffer (20) 1:100 verdünnt und 1 Stunde bei 4°C mit dem Magnetrührer gerührt. Anschließend wurde es portionsweise eingefroren und bis zum Gebrauch bei -20°C aufbewahrt.

Die Endverdünnung wurde mit 1:700 so gewählt, daß die Nullbindung bei ca. 40% lag.

2.3.7.6. Durchführung des RIA

Das Inkubationsvolumen von insgesamt 400 µl bestand aus 100 µl Probe bzw. Standard, 100 µl Verdünnung des markierten Hormons (10) und 200 µl Antikörperverdünnung.

Um den Löscheffekt des in den Proben befindlichen Äthanols (siehe 2.3.5.) auszugleichen, wurden dem Standard jeweils 10 µl 75% Äthanol (15) zugesetzt.

In einem Vorversuch wurde festgestellt, wie groß die Bindung nach 0,5, 1, 2 bzw. 6 Stunden Inkubation war und im Folgenden 2 Stunden lang bei 4°C inkubiert.

Die zur Beendigung der Bindungsreaktion verwendete Aktivkohlesuspension wurde nach der im Materialteil beschriebenen Vorschrift (18) hergestellt und unmittelbar vor dem Abstoppvorgang 20 Minuten bei 4°C mit einem Magnetrührer vermischt.

Nach Beendigung der Inkubationszeit wurde allen im Pipettierschema (s.S. 14) angegebenen Proben in rascher Folge je 500 µl Kohlesuspension zugesetzt, kurz auf dem Multivortexer (1) geschüttelt und 15 Minuten bei 4°C inkubiert. Anschliessend wurde 15 Minuten bei 1 700 g und 4°C zentrifugiert (3).

Der Überstand, der die antikörpergebundenen Hormone enthielt, wurde vollständig in Zählgläschen mit je 10 ml Zählflüssigkeit (16) abgekippt, während die ungebundenen Hormone an die Kohle adsorbiert und zusammen mit dieser sedimentiert wurden.

Bei hohen Hormonkonzentrationen in der Probe wurde ein entsprechend geringerer Anteil des um die Antikörperbindungsstellen konkurrierenden, radioaktiv markierten Hormons an die Antikörpermoleküle gebunden, so daß der Überstand dieser Proben eine geringere Zählrate ergab.

Eine Zusammenfassung des Radioimmunoassays zeigt das Pipettierschema in Tab. 1 (S.12).

Der Gesamtablauf der Bestimmung des 5-α-Pregnandion wurde in dem Schema S. 13 zusammengefaßt.

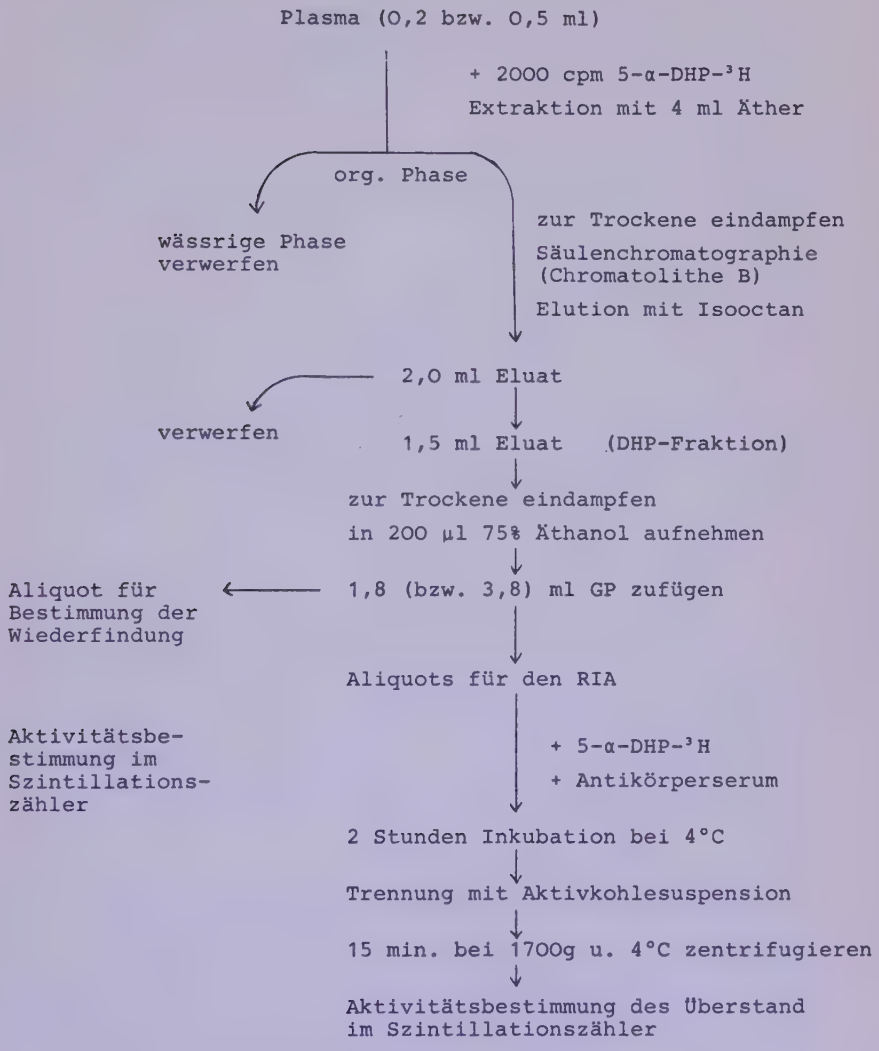
In Tabelle 2 verwendete Abkürzungen:

BG = Hintergrundstrahlung
T = Verdünnung des markierten Hormons
NS = unspezifische Bindung durch die Aktivkohle
BO = Antikörper-Nullbindung (100% markiertes Hormon)

Tab. 1 Pipettierschema des Radioimmunoassays

Probenbezeichnung / Lösung [µl]	BG	T	NS	BO	Standard 20-1000 ng/ml	Probe
Gelatinepuffer	900	800	300	100		
Standard					100	
Probe						100
Äthanol 75%	10	10	10	10	10	
markiertes Hormon		100	100	100	100	100
Antikörperverdünnung				200	200	200
	2 Stunden Inkubation bei 4°C					
Aktivkohlesuspension			500	500	500	500
	schütteln und 15 Minuten bei 4°C inkubieren 15 Minuten bei 1700 g zentrifugieren - Überstand abkippen					

Zusammenfassung der 5-α-Pregnandion-Bestimmung



2.4. Bestimmung des Östriol und Human Placental Lactogen

Die E_3- und HPL-Bestimmungen erfolgten routinemäßig im RIA-Labor der Universitätsfrauenklinik Tübingen mit Hilfe der RIA-Kits Amerlex Freies Östriol (^{125}J) bzw. HPL (^{125}J) der Fa. Amersham Buchler, Braunschweig.

Die Auswertung der Zähldaten erfolgte mit einem Gammazähler (7) die Datenausgabe über Teletype Modell 43.

2.5. Auswertung

2.5.1. Bestimmung und Umrechnung der Zählausbeuten

Die Proben wurden im Szintillationszähler (2) 2 Minuten lang gezählt. Die Auswertung erfolgte mit einem Tischcomputer (8) mit Hilfe eines Rechenprogramms der Fa. Hewlett und Packard nach dem log spline Model.

2.5.2. Übertragung der Patientendaten auf Computerkarten

Für eine statistische Auswertung der Ergebnisse war eine Übertragung der Patientendaten auf Lochkarten notwendig. Hierfür wurde für jede Patientin der auf der folgenden Seite dargestellte Erhebungsbogen ausgefüllt und dieser wiederum auf Lochkarten übertragen.

2.5.3. Statistische Auswertung

Die Errechnung der Mittelwerte, der Standardabweichung und des Standardfehlers sowie die Durchführung der U-Varianzteste für Kollektive mit unbekannter Verteilung erfolgte mit dem Computer (9) des Instituts für medizinische Dokumentation und Datenverarbeitung der Universität Tübingen.

Computer-Erhebungsbogen

A	IDENTIFIKATION EINER LOCHKARTE		
A1	LFD-NR. EINER PATIENTIN	1-3	
A2	KARTEN-NR.	4	
A3	SCHWANGERSCHAFTSWOCHE	5-6	
A4	GRUPPE	7	
A5	PAT. NR. IN EINER SSW U. EINER GRUPPE	8-9	
B	DATEN DER MUTTER		
B1	GESTOSEINDEX, nein=0	10	
B2	ALTER BEI NIEDERKUNFT	11- 12	
B3	PARITÄT	13	
C	DATEN DES NEUGEBORENEN		
C1	GEWICHT [g]	14-17	
C2	LÄNGE [cm]	18-19	
C3	GESCHLECHT [männl.=1,weibl.=2]	20	
D	HORMONWERTE IM MÜTTERLICHEN BLUT		
D1	ÖSTRIOL [ng/ml]	21-23	
D2	HPL [µg/ml]	24-26	
D3	5-α-DHP [ng/ml]	27-29	

3. MATERIAL

3.1. Geräte

(1) Multivortexer Modell 2601, Fa. SMI, USA

(2) Szintillationszähler Isocap300, Fa. Nuclear-Chicago, USA

(3) Zentrifuge Typ 5019, Fa. Heraeus Christ GmbH, Osterode

(4) Chromatographiesäule Quick Set, RIA-Charcoal Column, Innovative Laboratory Products, Ohio

(5) Rotator Typ 3025, Fa. GFL, Hannover

(6) Ultrazentrifuge Spinco, Modell L/L2, Fa. Beckman

(7) Gammazähler 1270 Rackgamma II, Fa. LKB

(8) Tischcomputer 9845 A, Fa. Hewlett u. Packard, Böblingen

3.2. Chemikalien

(10) 5-α-Dihydroprogesterone [1,2-^{3}H(N)] NET 438, New England Nuclear, Boston

(11) Progesteron [1,2-^{3}H] NET 208, New England Nuclear, Boston

(12) 5-α-Pregnan-3,20-Dion, P2750, Fa. Steraloids, Pawling, N.Y.

(13) Diäthyläther (p.a., Fa. Merck, Darmstadt)

(14) Isooctan (purum, Fluka AG)

(15) Äthanol absolut (p.a., Fa. Merck, Darmstadt)

(16) Szintillationsflüssigkeit Unisolve 1, Koch-Light Laboratories Ltd., Colnbrook Bucks, England

(17) Complete Freund's Adjuvant, Difco Laboratories, Detroit

(18) Aktivkohle Norit A, Fa. Serva, Heidelberg

(19) Säulenmaterial Chromatolithe B, Celite-Propylenglykol, Fa. bio Mérieux, Lyon

3.3. Lösungen

(20) Gelatinepuffer

Stocklösung A:

68,99 g $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ (reinst, Fa. Merck)
1 mg Thiomersal (Fa. Serva)
mit destilliertem Wasser auf 1 l auffüllen und langsam lösen

Stocklösung B:

17,8 g $Na_2HPO_4 \cdot 2\ H_2O$ (reinst, Fa. Merck)
1 mg Thiomersal (Fa. Serva)
mit destilliertem Wasser auf 1 l auffüllen und langsam lösen

Stocklösung C:

61,36 g NaCl (p.a., Fa. Merck)
1 mg Thiomersal (Fa. Serva)
mit destilliertem Wasser auf 1 l auffüllen und langsam lösen

Stocklösungen bei 4°C aufbewahren

0,1% Gelatinepuffer

1 g Gelatine (reinst, Fa. Serva)
1 mg Thiomersal (Fa. Serva)
6,6 ml Stocklösung A
66,7 ml Stocklösung B
133,3 ml Stocklösung C
mit destilliertem Wasser auf 1 Liter auffüllen und Gelatine bei 30°C im Wasserbad lösen

bei 4°C aufbewahren

(21) Aktivkohlesuspension

2,5 g Norit A (Fa. Serva)
0,25 g Dextran T 70 (Fa. Pharmacia)
mit 500 ml 0,1% Gelatinepuffer auffüllen und 4 Stunden bei 4°C rühren lassen

Kohlesuspension bei 4°C aufbewahren und unmittelbar vor Gebrauch nochmals 10 Minuten rühren lassen

4. ERGEBNISSE

4.1. Kreuzreaktionen des Antikörpers 110/5

In Tab. 2 sind die Kreuzreaktionen des Antikörpers mit insgesamt 24 untersuchten Steroidhormonen dargestellt.

Die hydroxylierten Steroide zeigten eine Kreuzreaktion von 3,2 bis 39,2%. Die Kreuzreaktion mit Progesteron betrug 100%, die mit DHP 90,7%. Es mußte also ein Trennungsverfahren angewandt werden, bei dem die hydroxylierten Steroide eliminiert und Progesteron und 5-α-Pregnandion aufgetrennt werden konnten.

4.2. Säulentrennung von 5-α-DHP und Progesteron

Durch Verwendung des unpolaren Lösungsmittels Isooctan wurde erreicht, daß die hydroxylierten Steroide am Säulenbeginn festgehalten wurden.

Abb. 1 zeigt das Elutionsverhalten von radioaktiv markiertem 5-α-DHP und Progesteron [siehe 3.2. (10) u. (11)]. Die ersten 2 ml des Eluats konnten verworfen werden, da sie keine Aktivität, d.h. kein Hormon enthielten.

Wurden als DHP-Fraktion die nachfolgenden 2 ml verwendet, so betrug die durchschnittliche Wiederfindung 64% [s=± 5,6%, n = 72], wobei hier sicherlich ein kleiner Teil Progesteron enthalten war.

Um eine Progesteron-Verunreinigung möglichst auszuschließen, wurden nach dem Vorlauf nur 1,5 ml Eluat aufgefangen und hieraus das 5-α-DHP bestimmt. Dabei betrug die durchschnittliche Wiederfindung 51,4% [s=± 5,06%, n = 68].

Tab. 2: Kreuzreaktivität des Antikörpers 110/5 mit 24 Steroidhormonen

Steroidhormon	Kreuzreaktivität [%]
Progesteron	100
4-Pregnen-11ß-17α,21 triol-3,20-dion	0
4-Pregnen-16α-ol-3,20-dion	0
4-Pregnen-21-ol-3,20-dion	26,5
4-Pregnen-17α,21-diol-3,20-dion	10,6
4-Pregnen-20β-ol-3-on	15,9
4-Pregnen-11β-ol-3,20-dion	20,3
4-Pregnen-11α-ol-3,20-dion	29,0
4-Pregnen-20α-ol-3-on	7,9
5-α-Pregnan-3β-ol-20-on	39,2
5-α-Pregnan-3,20-dion	90,7
Dihydroequilin	0
Equilinepoxid	0
Equilin	0
4-Androsten-17β-ol-3-on	5,3
4-Androsten-3,17-dion	0
5-α-Androstan-3α,17β-diol	3,2
5-α-Androstan-3β,17β-diol	0
5-α-Androstan-17β-ol-3-on	6,4
5-α-Androstan-3,17-dion	4,2
5-α-Androstan-3α,17β-diol	5,3
Östriol	0
Östradiol	4,7
Östron	0

Die durchschnittliche Progesteron-Wiederfindung belief sich auf 74,4% [SD = 6,7 ,n = 20]. Diese Werte liegen etwas höher als bei MILEWICH et al., die 1975 bei säulenchromatographischer Trennung der beiden Hormone eine Wiederfindung von 60% für Progesteron und 40% für 5-α-Pregnandion beschrieben.

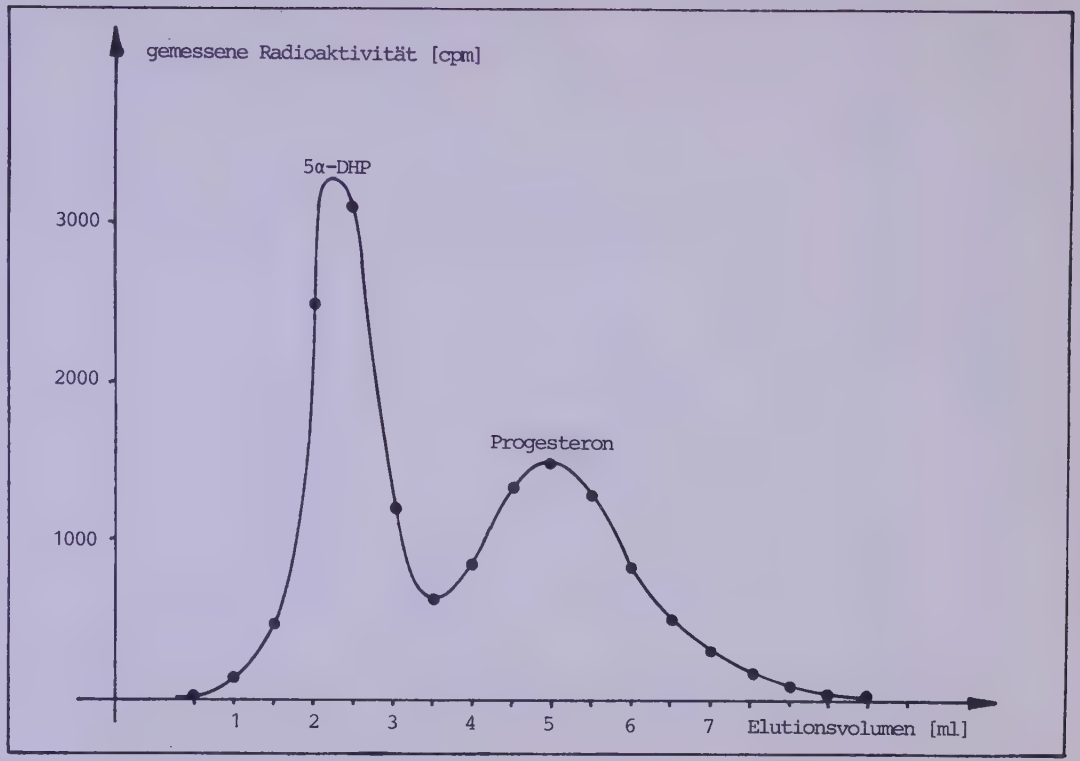
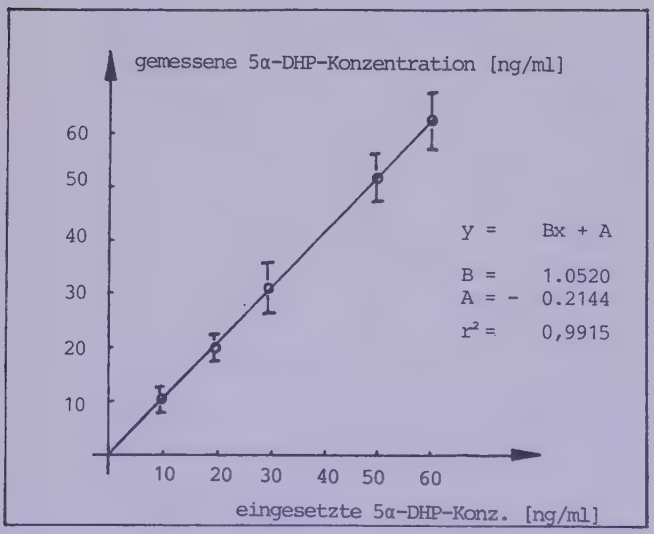


Abb. 1: Säulenchromatographische Trennung eines Gemisches aus radioaktiv markiertem 5α-DHP und Progesteron in Abhängigkeit vom Elutionsvolumen.

4.3. Qualitätskontrolle der 5-α-DHP-Bestimmung

Abb. 2 zeigt die Valiabilitätskontrolle für die 5-α-DHP-Bestimmung.

Die Kurvengleichung ergab $y = 1{,}052x - 0{,}2144$
Ein Korrelationskoeffizient von $r^2 = 0{,}9915$ weist auf eine hinreichende Korrelation hin.



Die Intraassayvarianz der Kontrollen mit 10 ng/ml betrug 5,31% [Mittelwert 9,76 ± 2,362 ng/ml, n = 20], die mittlere Varianz aller 5 untersuchten Konzentrationen betrug 11,6% [n = 100].

Die Interassayvarianz einer Plasmaprobe, die über mehrere Monate mitgemessen wurde, betrug 12,0%.

4.4. Bestimmung des Antikörpertiters für das Antiserum 110/5

Tabelle 3 zeigt das Ausmaß der Nullbindung für drei verschiedene Antikörperverdünnungen.

Hieraus war zu ersehen, daß für eine Bindung von 40-50% eine Verdünnung von 1:700 eingesetzt werden mußte.

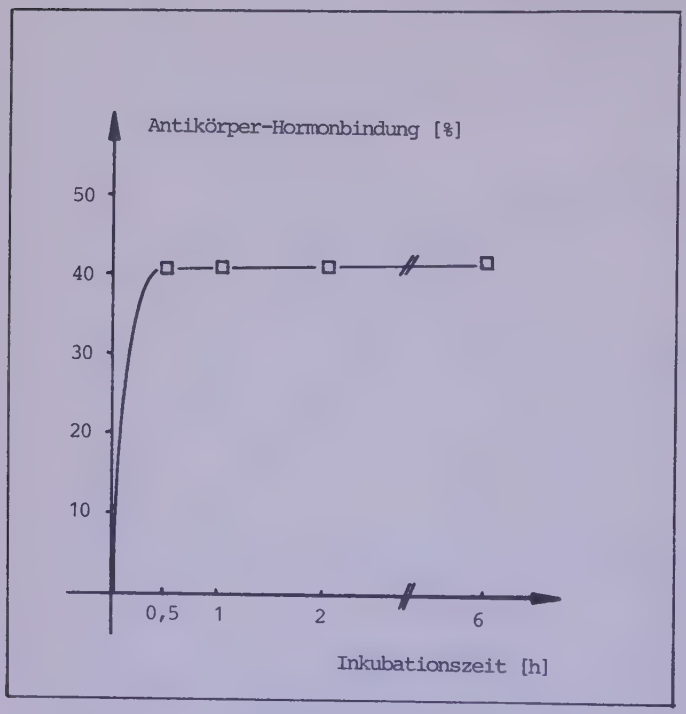
Tab. 3 Nullbindung (= BO/T, siehe Tab. 1) in Abhängigkeit von der Antikörperverdünnung

Antikörperverdünnung	1:100	1:500	1:1000
Nullbindung	88%	55%	35%

4.5. Abhängigkeit der Nullbindung von der Inkubationsdauer des Radioimmunoassays

Abb. 3 zeigt die Antikörperhormonbindung nach 0,5-, 1-, 2- bzw. 6-stündiger Inkubation. Bereits nach 30-minütiger Inkubationsdauer wurde eine Bindung von ca. 40% erreicht, die sich bei längerer Inkubation nur unwesentlich änderte. Zur Vereinheitlichung der Untersuchungen wurde immer eine Inkubationszeit von 2 Stunden gewählt.

Abb. 3: Antikörper-Hormonbindung in Abhängigkeit von der Inkubationszeit des Radioimmunoassays



4.6. Mittelwerte, Standardabweichung und Standardfehler des Mittelwerts von Östriol, HPL und 5α-DHP in Abhängigkeit vom Gestationsalter beim Normalkollektiv

Tabelle 4 zeigt den Verlauf der drei untersuchten Hormone von der 22. bis 42. Schwangerschaftswoche. Die Mittelwerte aller drei Hormone wiesen einen kontinuierlichen Anstieg

SSW	n	E_3[ng/ml]			HPL[µg/ml]			5α-DHP[ng/ml]		
		m	SD	SEM	m	SD	SEM	m	SD	SEM
22	19	5,2	1,0	0,2	3,1	0,9	0,2	10,4	4,2	1,1
23	20	5,2	1,3	0,3	3,0	0,9	0,2	12,8	7,0	0,6
24	20	5,8	1,5	0,3	3,3	0,7	0,2	11,2	6,8	1,5
25	20	6,8	1,3	0,3	3,6	1,1	0,2	14,0	8,7	2,0
26	20	7,5	1,3	0,3	4,2	0,9	0,2	20,0	6,5	1,5
27	20	7,0	1,5	0,3	4,0	1,3	0,3	18,0	9,1	2,0
28	19	6,9	1,3	0,3	4,5	0,7	0,2	19,2	7,6	1,7
29	20	7,6	2,1	0,5	4,6	0,8	0,2	27,6	11,9	2,7
30	20	7,2	1,4	0,3	5,2	1,0	0,2	31,0	12,6	2,8
31	20	8,3	2,0	0,5	6,1	1,2	0,3	31,7	11,8	2,6
32	19	7,6	1,6	0,4	6,0	1,1	0,3	30,5	11,4	2,6
33	20	9,3	2,7	0,6	6,7	0,7	0,2	32,2	19,8	4,4
34	20	9,0	1,8	0,4	6,9	1,2	0,3	37,9	12,0	2,7
35	20	9,8	2,3	0,5	7,5	1,3	0,3	37,0	9,5	2,1
36	20	11,5	3,5	0,8	7,2	1,2	0,3	42,2	11,7	2,6
37	18	13,4	6,0	1,4	8,0	1,6	0,4	41,6	15,2	3,5
38	20	15,9	3,9	0,9	7,7	1,9	0,4	40,4	14,5	3,2
39	20	16,2	4,6	1,0	7,4	1,4	0,3	43,4	13,2	3,0
40	20	17,8	5,5	1,2	7,1	1,6	0,3	45,1	17,3	3,9
41	20	17,6	5,2	1,2	7,2	2,1	0,5	45,4	17,8	4,0
42	20	17,8	5,2	1,2	7,2	1,4	0,3	45,0	21,8	4,9

Tab. 4: Mittelwerte (m), Standardabweichung (SD) und Standardfehler des Mittelwerts (SEM) des Normalkollektivs für Östriol [ng/ml], HPL[µg/ml] und 5α-DHP[ng/ml] in Abhängigkeit von der Schwangerschaftswoche (SSW).

n = Anzahl der Proben

mit dem Gestationsalter auf.

Die E_3-Werte stiegen von 5,2 ng/ml in der 22. SSW bis auf 17,8 ng/ml in der 42. SSW. Das HPL lag in der 22. Schwangerschaftswoche bei 3,1 µg/ml, stieg bis zur 37. SSW auf 8 µg/ml und fiel bis zur 42. SSW wieder auf 7,2 µg/ml ab.
Das 5α-DHP zeigte einen Anstieg von 10,4 ng/ml in der 22. SSW auf 45 ng/ml in der 42. SSW.

Bei Betrachtung der Standardabweichung bzw. des Standardfehlers für die Mittelwerte des E_3, HPL und 5α-DHP zeigte sich eine Zunahme mit steigendem Gestationsalter, wobei die Streubreite des 5α-DHP im Vergleich zu den beiden anderen Hormonen wesentlich größer war.

In Abb. 4 sind die Mittelwerte der Konzentrationen der 3 Hormone in Abhängigkeit von der Schwangerschaftswoche graphisch dargestellt.

4.7. Charakterisierung des Normalkollektivs mit Hilfe der Östriol- bzw. HPL-Werte

Da das von uns erstellte Normalkollektiv durch Auswahl von Patientinnen mit nicht pathologisch erniedrigten Hormonwerten zustande gekommen war, erschien eine Charakterisierung dieses Kollektivs im Vergleich zum Gesamtkollektiv von Interesse.

In Abb. 5 und 6 sind die 50%-, 2,5% und 97,5%-Percentile unseres Kollektivs für E_3 (Abb. 5) und HPL (Abb. 6) dargestellt. Außerdem wurde jeweils die 50%-Percentile der in der Universitätfrauenklinik Tübingen verwendeten Normwerttabelle eingetragen.

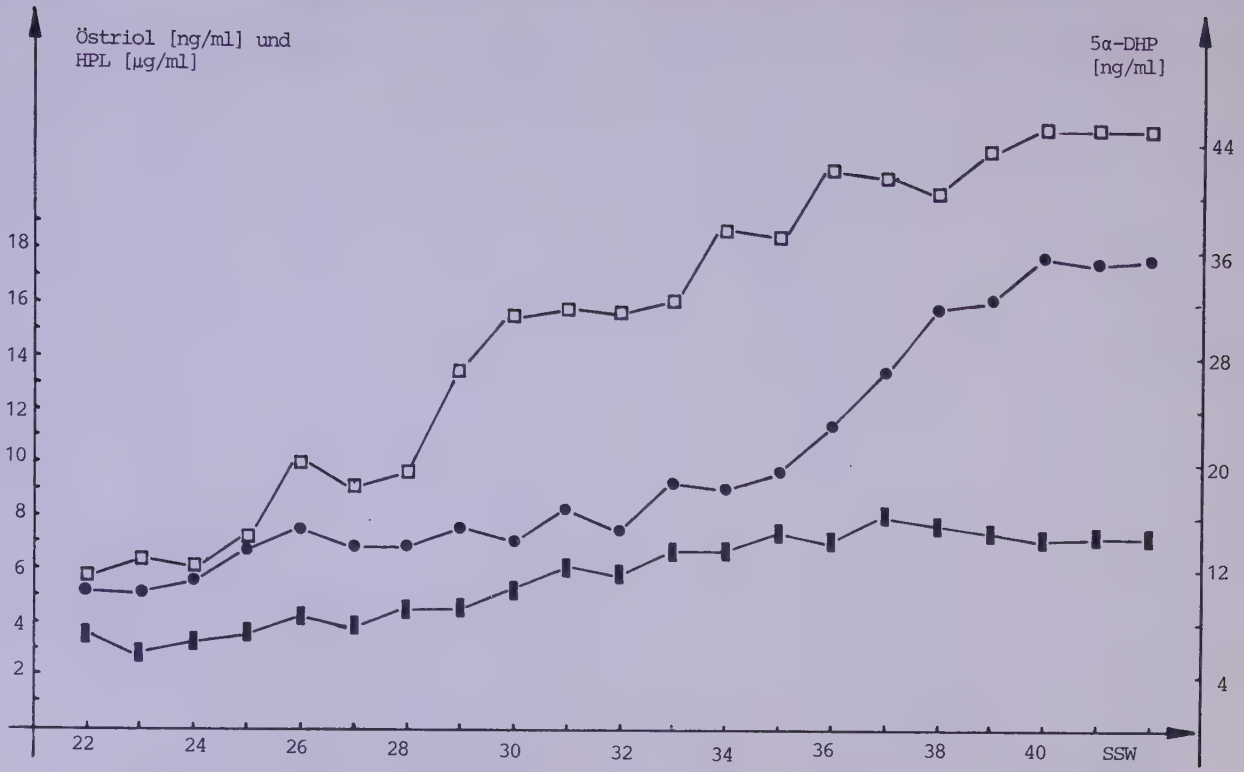


Abb. 4: Mittelwerte des in der vorliegenden Arbeit erstellten Normalkollektivs für Östriol [●—●], HPL [▮—▮] und 5α-DHP [□—□] von der 22. - 42. Schwangerschaftswoche (SSW).

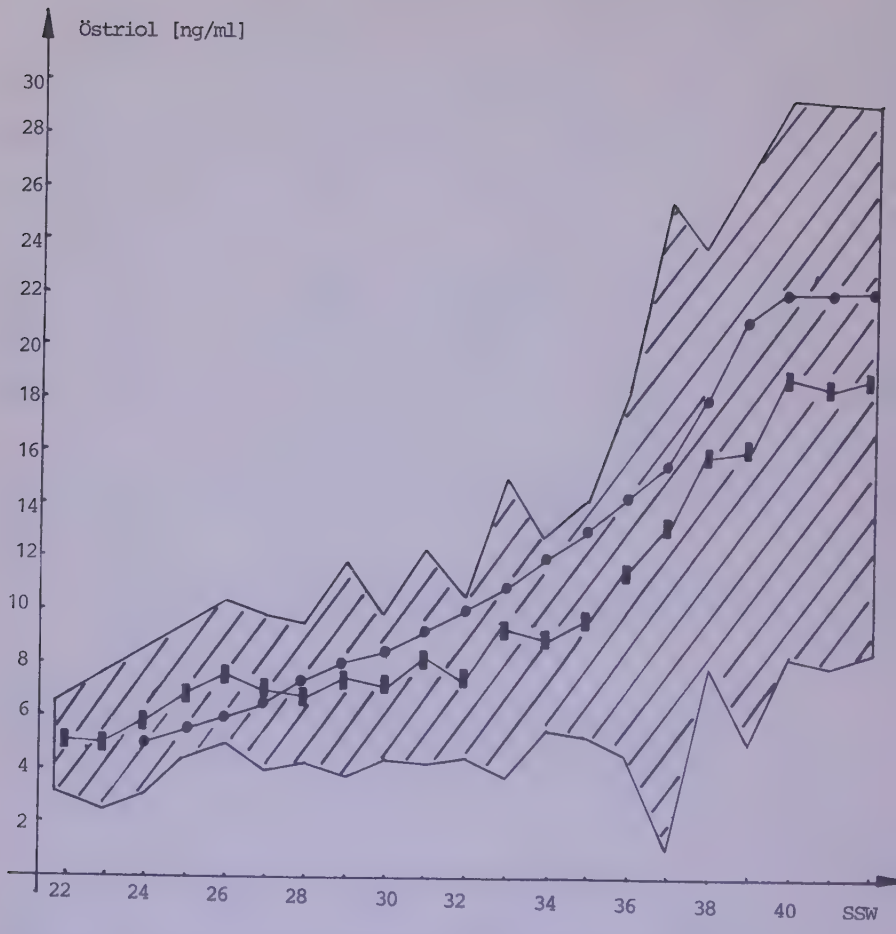


Abb. 5: 50%-, 2,5%- und 97,5%-Percentile des untersuchten [▮—▮] Normalkollektivs für Östriol [ng/ml] im Verlauf der Schwangerschaft im Vergleich zur 50%-Percentile der Normwerttabelle der Universitätsfrauenklinik Tübingen [●—●]

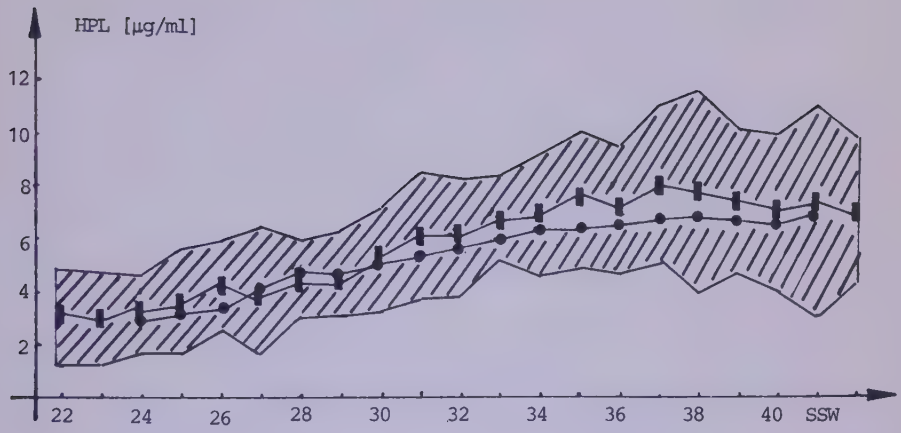


Abb. 6: 50%-, 2,5%- und 97,5%-Percentile des untersuchten Normalkollektivs für HPL [µg/ml] im Verlauf der Schwangerschaft im Vergleich zur 50%-Percentile der Normwerttabelle der Universitätsfrauenklinik Tübingen [●—●]

[▮—▮] = untersuchtes Kollektiv

Die Tatsache, daß bei der Erstellung unseres Kollektivs die Patientinnen mit pathologisch niedrigen Hormonwerten nicht aufgenommen wurden, ließ erwarten, daß die Mittelwerte dieses Kollektivs etwas höher als die des Gesamtkollektivs liegen würden. Dies traf für den Verlauf der Mittelwerte des HPL mit Ausnahme der 23.-26.SSW zu.

Im Gegensatz dazu lagen die entsprechenden E_3-Werte des Gesamtkollektivs ab der 30. SSW deutlich über der 50%-Percentile desjenigen Kollektivs, das unter der Voraussetzung einer normal abgelaufenen Schwangerschaft und der Geburt eines gesunden, normalgewichtigen Kindes zustande gekommen war.

4.8. Individuelle Verläufe der drei Hormonkonzentrationen am Beispiel einzelner Patientinnen

Die Plasma-Hormonwerte von Östriol, HPL und 5α-DHP wurden in einigen Fällen für ein und dieselbe Patientin mehrmals zu verschiedenen Zeitpunkten der Schwangerschaft bestimmt.

Es zeigte sich für die Mehrzahl der Verlaufskurven, daß sich HPL und 5α-DHP weitgehend parallel verhielten. Dies ist auch den in Abb. 7 und 8 exemplarisch dargestellten Konzentrationsverläufen zu entnehmen. Die Veränderung der E_3-Konzentration war von den Schwankungen der beiden anderen Hormone kaum beeinflußt.

Das kontinuierliche Ansteigen der Hormonkonzentrationen, das für die Mittelwerte des gesamten Normalkollektivs festgestellt wurde, konnte in den einzelnen Verläufen nicht immer wiedergefunden werden, wenngleich das Östriol fast immer einen stetigen Anstieg zeigte.

Die Hormonkonzentrationen ermöglichten in den hier vorgestellten Beispielen keine Aussage über die Wachstumsentwicklung des Feten. So bewegten sich die Hormonspiegel der Patientin A (Abb. 7) überwiegend im unteren Normbereich und erreichten allenfalls kurzfristig die 50%-Percentile. Ihr Kind wog 3790 g und war 52 cm lang.
Patientin B zeigte deutlich über der 50%-Percentile liegende Hormonkonzentrationen, das Neugeborene wog 3020 g und war 50 cm lang.

Diese Tatsache war u.a. ein Anlaß, im folgenden Abschnitt Einflüsse von Parametern der Mutter wie Alter und Parität, sowie von Parametern des Neugeborenen, wie Geburtsgewicht, Körperlänge und Geschlecht auf die Hormonkonzentrationen statistisch zu untersuchen.

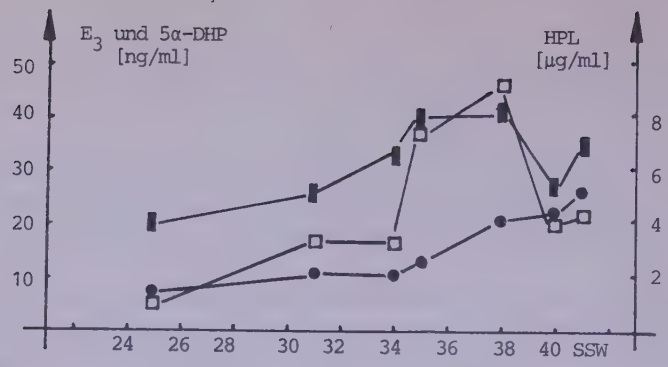


Abb. 7: Konzentrationsverläufe des Östriols (●—●), HPL (▮—▮) und 5α-DHP (□—□) bei Patientin A.

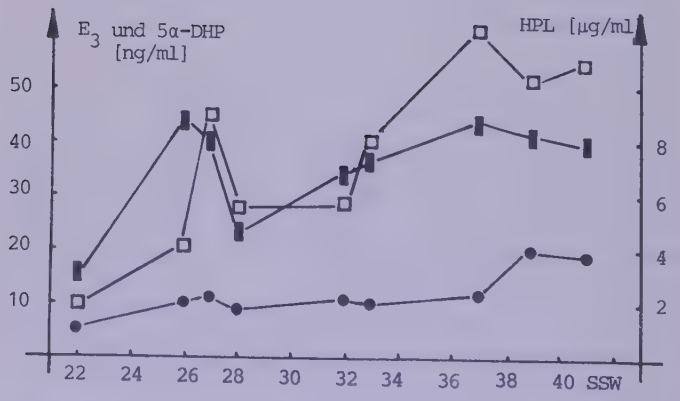


Abb. 8: Konzentrationsverläufe des Östriols (●—●), HPL (▮—▮) und 5α-DHP (□—□) bei Patientin B

4.9. Untersuchung der Einflüsse mütterlicher Parameter auf die Hormonkonzentrationen

4.9.1. Alter der Mutter bei der Niederkunft

Um einen eventuellen Einfluß des Alters der Schwangeren auf den Verlauf der 3 Hormonwerte festzustellen, wurde das gesamte Kollektiv der normalen Schwangeren in zwei Gruppen unterteilt. Die Gruppe 1 umfaßte alle Frauen, die bei der Geburt das 30. Lebensjahr noch nicht vollendet hatten, Gruppe 2 bestand aus allen Frauen, die 30 Jahre und älter waren. Für alle 3 untersuchten Hormone konnten keine Unterschiede für die beiden Altersklassen gefunden werden (s. Tab. 5).

Obwohl sich in der 39. SSW im U-Test für die älteren Schwangeren ein signifikant höherer 5α-DHP-Spiegel fand, konnte für die übrigen Schwangerschaftswochen nicht einmal eine Tendenz in irgendeiner Richtung ausgemacht werden.

4.9.2. Einfluß der Parität

Im Hinblick auf die Parität der Schwangeren wurden ebenfalls zwei Gruppen aus dem Gesamtkollektiv gebildet. In Gruppe 1 wurden alle Primiparae, in Gruppe 2 alle Pluriparae eingeteilt.

Wie aus Tab. 6 zu ersehen ist, ergab sich lediglich für das HPL in einigen höheren Schwangerschaftswochen ein signifikant höherer Hormonspiegel bei den Primiparae. Für alle Hormone ließ sich jedoch zumindest für die letzten sechs SSW eine Tendenz zu höheren Hormonwerten bei den Primiparae feststellen. Für das E_3 ergab sich diese Tendenz sogar für fast alle untersuchten Schwangerschaftswochen.

SSW	Gr.	n	E_3 [ng/ml] m [SD]	Sign.	HPL [µg/ml] m [SD]	Sign.	5α-DHP [ng/ml] m [SD]	Sign.
22	1	13	5,1 [1,2]	n.s.	3,2 [0,9]	n.s.	9,8 [5,0]	n.s.
	2	6	5,5 [0,5]		2,8 [0,8]		11,8 [3,3]	
23	1	11	4,7 [1,1]	n.s.	3,0 [0,8]	n.s.	12,1 [5,7]	n.s.
	2	9	5,7 [1,3]		2,8 [0,8]		13,5 [8,4]	
24	1	11	5,5 [1,4]	n.s.	3,3 [0,7]	n.s.	11,1 [6,7]	n.s.
	2	9	6,1 [1,6]		3,2 [0,8]		11,3 [7,4]	
25	1	15	3,3 [0,9]	n.s.	3,4 [1,0]	n.s.	13,1 [8.5]	n.s.
	2	5	4,4 [0,9]		4,5 [1,0]		16,6 [9,9]	
26	1	12	7,7 [1,3]	n.s.	4,3 [0,8]	n.s.	18,7 [5,9]	n.s.
	2	8	7,2 [1,3]		4,1 [0,8]		21,9 [7,1]	
27	1	13	6,8 [1,4]	n.s.	4,1 [1,4]	n.s.	18,7 [10,1]	n.s.
	2	7	7,2 [1,5]		3,7 [1,0]		16,7 [7,2]	
28	1	14	7,0 [1,5]	n.s.	4,5 [0,8]	n.s.	20,7 [7,9]	n.s.
	2	5	6,4 [0,9]		4,6 [0,2]		14,9 [4,6]	
29	1	13	7,8 [2,1]	n.s.	4,9 [0,6]	n.s.	30,6 [13,9]	n.s.
	2	7	7,0 [2,0]		4,1 [0,8]		22,1 [2,6]	
30	1	15	7,3 [1,5]	n.s.	5,2 [1,1]	n.s.	31,8 [14,3]	n.s.
	2	5	6,8 [1,1]		5,3 [0,4]		28,4 [5,0]	
31	1	15	8,3 [2,2]	n.s.	6,1 [1,2]	n.s.	31,7 [13,2]	n.s.
	2	5	8,2 [1,1]		5,8 [1,3]		31,8 [7,1]	
32	1	13	7,5 [1,6]	n.s.	6,1 [1,1]	n.s.	31,0 [11,9]	n.s.
	2	6	7,7 [1,6]		5,7 [1,0]		29,1 [11,2]	
33	1	12	8,6 [1,5]	n.s.	6,7 [0,7]	n.s.	26,5 [11,9]	n.s.
	2	7	10,5 [3,8]		6,8 [0,8]		42,7 [27,5]	
34	1	10	8,3 [1,8]	n.s.	7,0 [1,3]	n.s.	32,3 [12,1]	n.s.
	2	10	9,8 [1,6]		6,8 [1,3]		43,5 [9,3]	
35	1	14	9,5 [2,2]	n.s.	7,7 [1,5]	n.s.	37,0 [9,6]	n.s.
	2	6	10,5 [2,7]		6,9 [0,5]		37,2 [10,0]	
36	1	14	11,1 [3,7]	n.s.	7,1 [1,3]	n.s.	41,7 [13,7]	n.s.
	2	6	12,3 [2,9]		7,3 [1,1]		43,6 [9,8]	
37	1	15	13,1 [5,5]	n.s.	8,1 [1,7]	n.s.	42,1 [15,4]	n.s.
	2	3	14,8 [9,6]		7,7 [1,1]		38,7 [16,9]	
38	1	13	15,9 [4,3]	n.s.	7,9 [2,1]	n.s.	39,7 [13,2]	n.s.
	2	7	15,9 [3,3]		7,4 [1,7]		41,7 [17,7]	
39	1	13	15,9 [4,8]	n.s.	7,4 [1,5]	n.s.	47,6 [13,5]	s.
	2	7	17,0 [4,6]		7,4 [1,3]		35,5 [8,7]	
40	1	13	18,8 [6,3]	n.s.	7,2 [1,5]	n.s.	46,1 [18,9]	n.s.
	2	7	16,0 [3,2]		7,0 [1,8]		43,4 [15,3]	
41	1	12	17,8 [5,2]	n.s.	7,5 [2,5]	n.s.	46,8 [21,4]	n.s.
	2	8	17,2 [5,0]		6,9 [1,3]		43,3 [11,4]	
42	1	12	19,3 [5,7]	n.s.	7,2 [1,5]	n.s.	46,8 [26,2]	n.s.
	2	8	15,4 [3,2]		7,2 [1,3]		42,4 [14,3]	

Tab.5 : Vergleich der E_3-, HPL- und 5α-DHP-Werte in den Altergruppen < 30 Jahre (Gr. 1) und > 30 Jahre (Gr. 2)
SSW = Schwangerschaftswoche, n = Anzahl der Proben
n.s. = nicht signifikant, s. = nach dem U-Test signifikant

SSW	Gr.	n	E_3 [ng/ml] m [SD]	Sign.	HPL [µg/ml] m [SD]	Sign.	5α-DHP [ng/ml] m [SD]	Sign.
22	1	10	5,3 [0,9]	n.s.	2,7 [0,6]	n.s.	9,5 [3,6]	n.s.
	2	9	5,1 [1,2]		3,4 [1,0]		11,4 [5,5]	
23	1	11	5,2 [1,3]	n.s.	2,8 [0,6]	n.s.	13,3 [8,6]	n.s.
	2	9	5,1 [1,4]		3,1 [1,0]		12,0 [4,6]	
24	1	11	5,2 [1,2]	n.s.	2,9 [0,6]	s.	9,5 [6,6]	n.s.
	2	9	6,4 [1,6]		3,7 [0,6]		13,3 [6,9]	
25	1	12	7,1 [1,3]	n.s.	3,9 [0,8]	n.s.	14,0 [9,2]	n.s.
	2	8	6,3 [1,0]		3,2 [1,3]		14,0 [8,6]	
26	1	11	7,8 [1,3]	n.s.	4,1 [0,9]	n.s.	20,6 [6,7]	n.s.
	2	9	7,2 [1,3]		4,3 [0,8]		19,3 [6,5]	
27	1	10	6,8 [1,8]	n.s.	3,6 [1,4]	n.s.	17,5 [10,0]	n.s.
	2	10	7,0 [1,1]		4,3 [1,0]		18,4 [8,6]	
28	1	9	6,9 [1,5]	n.s.	4,4 [0,7]	n.s.	18,4 [6,8]	n.s.
	2	10	6,8 [1,3]		4,6 [0,8]		19,9 [8,4]	
29	1	6	7,5 [1,9]	n.s.	4,6 [1,2]	n.s.	27,0 [9,8]	n.s.
	2	14	7,6 [2,2]		4,6 [0,5]		27,9 [13,0]	
30	1	10	7,3 [1,4]	n.s.	5,1 [0,7]	n.s.	32,0 [11,8]	n.s.
	2	10	7,0 [1,5]		5,3 [1,2]		29,9 [13,9]	
31	1	12	8,4 [2,5]	n.s.	5,9 [0,8]	n.s.	31,0 [14,0]	n.s.
	2	8	8,1 [1,1]		6,3 [1,7]		32,8 [8,2]	
32	1	10	7,7 [1,9]	n.s.	6,0 [0,9]	n.s.	31,2 [10,9]	n.s.
	2	9	7,4 [1,2]		5,9 [1,4]		29,7 [12,6]	
33	1	7	9,9 [1,6]	n.s.	7,2 [0,7]	s.	37,4 [26,7]	n.s.
	2	10	9,0 [3,2]		6,5 [0,6]		30,1 [15,9]	
34	1	8	9,3 [2,3]	n.s.	6,9 [1,1]	n.s.	31,7 [11,3]	n.s.
	2	12	8,8 [1,4]		6,8 [1,4]		42,0 [11,0]	
35	1	12	9,9 [2,2]	n.s.	7,9 [1,4]	s.	38,3 [8,7]	n.s.
	2	8	9,6 [2,7]		6,8 [0,7]		35,1 [10,8]	
36	1	10	12,6 [4,0]	n.s.	7,1 [1,4]	n.s.	41,8 [14,0]	n.s.
	2	10	10,3 [2,6]		7,2 [1,1]		42,7 [9,5]	
37	1	10	15,1 [5,8]	n.s.	8,2 [1,4]	n.s.	41,6 [15,0]	n.s.
	2	8	11,4 [5,9]		7,8 [1,8]		41,5 [16,5]	
38	1	10	16,1 [4,7]	n.s.	8,0 [2,1]	n.s.	36,8 [12,4]	n.s.
	2	10	15,6 [3,1]		7,4 [1,8]		44,0 [16,1]	
39	1	17	15,4 [4,2]	n.s.	7,4 [1,5]	n.s.	45,3 [13,2]	n.s.
	2	3	20,9 [4,7]		7,3 [0,5]		32,8 [7,6]	
40	1	14	19,1 [5,9]	n.s.	7,6 [1,5]	s.	47,2 [19,5]	n.s.
	2	6	14,0 [3,0]		5,9 [0,9]		40,3 [10,5]	
41	1	13	17,7 [5,3]	n.s.	8,0 [2,1]	s.	50,7 [20,0]	n.s.
	2	7	17,3 [5,3]		5,7 [0,9]		35,6 [5,7]	
42	1	7	21,2 [4,9]	s.	8,1 [1,3]	s.	50,4 [23,9]	n.s.
	2	13	15,9 [4,4]		6,7 [1,2]		42,1 [21,0]	

Tab. 6: Vergleich der E_3-, HPL- und 5α-DHP-Werte bei Primipara [Gr. 1] und Pluripara [Gr. 2] in der 22. bis 42. Schwangerschaftswoche (SSW), n = Anzahl der Proben
n.s. = nicht signifikant, s. = signifikant nach dem U-Test

4.10. Untersuchung der Einflüsse kindlicher Parameter auf die Hormonkonzentrationen

4.10.1. Geburtsgewicht des Kindes

Für die Beurteilung des Geburtsgewichts des Neugeborenen im Zusammenhang mit den Hormonspiegeln wurden 2 Gewichtsklassen mit Neugeborenen unter 3500 g und solchen ≥ 3500 g gebildet. Bei keinem der drei Hormone ließ sich ein Überwiegen der einen oder anderen Gewichtsklasse bei hohen oder niedrigen Hormonwerten feststellen. Lediglich in der 34. SSW für das E_3 und in der 25. SSW für das 5α-DHP zeigte sich ein signifikantes Abweichen der Hormonwerte nach oben für die schwereren Neugeborenen (s. Tab. 7).

4.10.2. Länge des Neugeborenen

In Tabelle 8 sind die Ergebnisse der gleichen Untersuchung für die Länge des Neugeborenen dargestellt. In Gruppe 1 befinden sich alle Hormonmittelwerte von Schwangeren, deren Neugeborene weniger als 50 cm maßen, während in Gruppe 2 diejenigen mit 50 cm und mehr eingeteilt wurden.

Auch hier zeigte sich für keines der Hormone ein signifikanter Unterschied für die beiden Gruppen. Tendenzmäßig ließ sich jedoch ein Überwiegen höherer Hormonwerte bei den längeren Neugeborenen ablesen.

4.10.3. Geschlecht des Neugeborenen

Auch für das Geschlecht des Neugeborenen wurde ein vergleichende Untersuchung durchgeführt. Im Tab. 9 wurden die Knaben in Gr. 1 und die Mädchen in Gruppe 2 eingeteilt.

Für das E_3 konnte keinerlei Einfluß des Geschlechts des

SSW	Gr.	n	E_3[ng/ml] m [SD]	Sign.	HPL[µg/ml] m [SD]	Sign.	5α-DHP[ng/ml] m [SD]	Sign.
22	1	8	4,9[1,2]	n.s.	2,7[0,9]	n.s.	10,9[4,4]	n.s.
	2	11	5,3[0,9]		3,3[0,8]		10,2[4,9]	
23	1	12	5,0[1,2]	n.s.	3,2[0,9]	n.s.	12,5[8,1]	n.s.
	2	8	5,5[1,4]		2,6[0,7]		13,1[5,3]	
24	1	11	5,5[1,3]	n.s.	3,2[0,7]	n.s.	10,1[6,1]	n.s.
	2	9	6,0[1,7]		3,5[0,8]		12,5[7,8]	
25	1	14	6,6[1,2]	n.s.	3,3[1,0]	n.s.	10,4[3,6]	s.
	2	6	7,4[1,3]		4,4[0,7]		22,4[11,6]	
26	1	13	7,2[1,3]	n.s.	4,0[0,9]	n.s.	20,1[6,4]	n.s.
	2	7	8,0[1,3]		4,6[0,7]		19,8[7,1]	
27	1	14	6,7[1,2]	n.s.	3,7[0,9]	n.s.	16,5[6,8]	n.s.
	2	6	7,5[1,9]		4,5[1,8]		21,3[13,2]	
28	1	12	7,0[1,1]	n.s.	4,7[0,7]	n.s.	19,9[8,7]	n.s.
	2	7	6,6[1,7]		4,1[0,5]		17,9[8,6]	
29	1	14	7,5[2,2]	n.s.	4,6[0,7]	n.s.	26,8[12,8]	n.s.
	2	6	7,8[1,9]		4,6[0,8]		29,7[10,3]	
30	1	9	7,2[1,1]	n.s.	5,1[0,6]	n.s.	27,5[8,6]	n.s.
	2	11	7,2[1,7]		5,3[1,2]		33,8[14,9]	
31	1	12	8,7[2,1]	n.s.	5,9[1,0]	n.s.	31,5[10,8]	n.s.
	2	8	7,7[1,8]		6,2[1,6]		32,0[14,0]	
32	1	13	7,9[1,6]	n.s.	5,8[1,0]	n.s.	29,1[9,9]	n.s.
	2	6	6,9[1,5]		6,3[1,4]		33,5[14,8]	
33	1	12	8,9[1,7]	n.s.	6,6[0,7]	n.s.	31,1[21,8]	n.s.
	2	7	9,9[4,0]		6,0[0,8]		35,8[18,1]	
34	1	16	8,6[1,5]	s.	6,8[1,3]	n.s.	38,3[12,2]	n.s.
	2	4	10,8[1,9]		6,8[1,2]		36,1[12,7]	
35	1	10	9,3[2,2]	n.s.	7,3[1,2]	n.s.	36,4[11,6]	n.s.
	2	10	10,3[2,5]		7,7[1,5]		37,7[7,3]	
36	1	13	12,5[3,6]	n.s.	7,4[1,3]	n.s.	40,1[10,5]	n.s.
	2	7	9,5[2,4]		6,7[1,0]		46,2[13,6]	
37	1	11	14,7[7,3]	n.s.	7,8[1,3]	n.s.	43,6[12,3]	n.s.
	2	7	11,4[2,2]		8,4[1,9]		38,3[19,5]	
38	1	11	15,0[2,7]	n.s.	7,7[1,9]	n.s.	37,5[13,9]	n.s.
	2	9	16,9[5,0]		7,8[2,0]		43,9[15,1]	
39	1	9	15,4[5,0]	n.s.	7,0[1,6]	n.s.	42,3[7,7]	n.s.
	2	11	17,0[4,3]		7,7[1,1]		44,2[16,7]	
40	1	8	15,8[4,4]	n.s.	6,6[1,2]	n.s.	48,6[20,8]	n.s.
	2	12	19,1[5,9]		7,4[1,7]		42,8[15,1]	
41	1	7	15,6[6,1]	n.s.	6,6[2,1]	n.s.	40,1[10,4]	n.s.
	2	13	18,6[4,5]		7,5[2,0]		48,2[20,5]	
42	1	8	16,7[3,7]	n.s.	6,9[1,0]	n.s.	41,7[20,2]	n.s.
	2	12	18,4[5,9]		7,3[1,6]		47,1[23,4]	

Tab. 7: Vergleich der E_3-, HPL- und 5α-DHP-Werte in den Gewichtsklassen < 3500g (Gr. 1) und > 3500 g (Gr. 2)
SSW = Schwangerschaftswoche, n = Anzahl der Proben
n.s. = nicht signifikant, s. = nach dem U-Test signifikant

SSW	Gr.	n	E_3 [ng/ml] m [SD]	Sign.	HPL [µg/ml] m [SD]	Sign.	5α-DHP [ng/ml] m [SD]	Sign.
22	1	7	5,1 [1,2]	n.s.	2,5 [0,6]	s.	9,2 [4,3]	n.s.
	2	12	5,3 [1,0]		3,4 [0,8]		11,0 [4,8]	
23	1	12	5,1 [1,4]	n.s.	3,1 [0,9]	n.s.	13,1 [7,9]	n.s.
	2	8	5,2 [1,3]		2,7 [0,7]		12,3 [5,7]	
24	1	12	5,7 [1,5]	n.s.	3,3 [0,7]	n.s.	11,7 [6,7]	n.s.
	2	8	5,8 [1,6]		3,3 [0,8]		10,5 [7,5]	
25	1	14	6,6 [1,2]	n.s.	3,3 [1,0]	n.s.	10,4 [3,6]	s.
	2	6	7,4 [1,3]		4,4 [0,7]		22,4 [11,5]	
26	1	13	7,2 [1,2]	n.s.	4,1 [1,0]	n.s.	20,1 [6,4]	n.s.
	2	7	8,2 [1,3]		4,4 [0,6]		19,8 [7,1]	
27	1	12	7,0 [1,3]	n.s.	4,1 [1,4]	n.s.	19,2 [9,8]	n.s.
	2	8	6,9 [1,7]		3,9 [1,2]		16,1 [8,1]	
28	1	9	7,2 [1,2]	n.s.	4,8 [0,8]	n.s.	18,9 [7,9]	n.s.
	2	10	6,5 [1,4]		4,2 [0,6]		19,4 [7,7]	
29	1	12	7,9 [2,0]	n.s.	5,0 [0,5]	s.	28,7 [12,3]	n.s.
	2	8	7,0 [2,2]		4,0 [0,7]		26,0 [11,9]	
30	1	11	7,1 [1,0]	n.s.	5,3 [0,7]	n.s.	29,3 [9,9]	n.s.
	2	9	7,2 [1,9]		5,1 [1,3]		32,9 [15,6]	
31	1	13	8,6 [2,1]	n.s.	5,9 [0,9]	n.s.	31,5 [9,9]	n.s.
	2	7	7,7 [1,9]		6,3 [1,7]		32,1 [15,6]	
32	1	14	7,9 [1,7]	n.s.	5,8 [0,9]	n.s.	28,5 [8,4]	n.s.
	2	5	6,7 [1,0]		6,5 [1,5]		36,0 [17,4]	
33	1	13	8,9 [1,6]	n.s.	6,6 [0,7]	n.s.	32,0 [21,3]	n.s.
	2	6	10,2 [4,3]		6,9 [0,8]		32,6 [17,7]	
34	1	15	8,9 [1,9]	n.s.	7,0 [1,3]	n.s.	37,5 [11,8]	n.s.
	2	5	9,5 [1,5]		6,5 [0,8]		39,0 [13,8]	
35	1	11	9,6 [2,2]	n.s.	7,2 [0,9]	n.s.	34,0 [9,6]	n.s.
	2	9	10,0 [2,6]		7,8 [1,7]		40,7 [8,4]	
36	1	9	12,8 [4,1]	n.s.	7,5 [1,4]	n.s.	40,4 [9,4]	n.s.
	2	11	10,3 [2,5]		6,9 [1,0]		43,7 [13,6]	
37	1	13	14,4 [6,7]	n.s.	8,0 [1,3]	n.s.	41,6 [12,8]	n.s.
	2	5	10,9 [2,4]		8,0 [2,3]		41,5 [22,2]	
38	1	9	15,1 [3,0]	n.s.	7,3 [1,9]	n.s.	37,4 [15,6]	n.s.
	2	11	16,5 [4,6]		8,0 [2,0]		42,8 [13,8]	
39	1	7	14,9 [4,0]	n.s.	7,8 [1,6]	n.s.	47,0 [11,0]	n.s.
	2	13	17,0 [4,9]		7,2 [1,3]		41,5 [14,2]	
40	1	10	17,4 [4,7]	n.s.	7,1 [1,6]	n.s.	47,0 [13,8]	n.s.
	2	10	18,2 [6,5]		7,0 [1,6]		43,0 [20,9]	
41	1	7	13,8 [3,5]	n.s.	7,0 [2,0]	n.s.	44,3 [14,8]	n.s.
	2	13	19,6 [4,9]		7,3 [2,2]		46,0 [19,7]	
42	1	5	15,7 [3,5]	n.s.	6,6 [0,8]	n.s.	37,8 [23,3]	n.s.
	2	15	18,5 [5,5]		7,4 [1,5]		47,4 [21,6]	

Tab. 8 : Vergleich der E_3-, HPL- und 5α-DHP-Werte der Mütter von Neugeborenen $<$ 50 cm (Gr. 1) und $>$ 50 cm (Gr. 2)
SSW = Schwangerschaftswoche, n = Anzahl der Proben
n.s. = nicht signifikant, s. = nach dem U-Test signifikant

SSW	Gr.	n	E_3[ng/ml] m [SD]	Sign.	HPL[µg/ml] m [SD]	Sign.	5α-DHP[ng/ml] m [SD]	Sign.
22	1	8	5,0[1,3]	n.s.	3,2[1,1]	n.s.	10,7[5,5]	n.s.
	2	11	5,3[0,9]		3,0[0,7]		10,2[4,1]	
23	1	9	5,2[1,6]	n.s.	2,9[0,9]	n.s.	12,1[6,0]	n.s.
	2	11	5,2[1,1]		3,0[0,9]		13,3[7,9]	
24	1	6	5,7[1,9]	n.s.	3,5[0,8]	n.s.	11,5[8,5]	n.s.
	2	14	5,9[1,4]		3,2[0,7]		11,1[6,4]	
25	1	6	7,6[1,3]	n.s.	4,0[1,1]	n.s.	21,0[12,1]	s.
	2	14	6,5[1,2]		3,5[1,0]		11,0[4,7]	
26	1	9	7,0[1,3]	n.s.	3,7[0,9]	n.s.	17,7[6,0]	n.s.
	2	11	7,4[1,2]		4,6[0,6]		21,9[6,5]	
27	1	11	7,4[1,8]	n.s.	3,6[1,1]	n.s.	17,6[8,5]	n.s.
	2	9	6,5[0,9]		4,5[1,4]		18,5[10,3]	
28	1	6	6,1[0,9]	n.s.	4,1[0,4]	s.	22,8[5,8]	n.s.
	2	13	7,2[1,4]		4,7[0,7]		17,5[7,9]	
29	1	8	9,0[1,4]	s.	4,7[0,8]	n.s.	35,6[15,3]	n.s.
	2	12	6,6[1,9]		4,6[0,8]		22,4[4,5]	
30	1	13	7,5[1,6]	n.s.	5,4[1,1]	n.s.	34,3[13,0]	n.s.
	2	7	6,6[1,0]		4,9[0,5]		24,7[9,7]	
31	1	11	8,1[2,6]	n.s.	5,7[1,3]	s.	36,7[11,9]	s.
	2	9	8,6[1,2]		6,5[0,9]		25,7[8,4]	
32	1	10	7,4[1,6]	n.s.	6,2[1,3]	n.s.	35,2[13,6]	n.s.
	2	9	7,8[1,6]		5,7[0,8]		25,2[5,2]	
33	1	11	9,7[3,2]	n.s.	6,6[0,7]	n.s.	33,8[14,6]	n.s.
	2	8	8,8[1,9]		6,8[0,9]		31,5[29,0]	
34	1	11	8,6[1,6]	n.s.	6,7[1,4]	n.s.	40,1[13,1]	n.s.
	2	9	9,4[2,1]		7,1[1,0]		35,2[10,6]	
35	1	11	9,3[2,3]	n.s.	7,5[1,5]	n.s.	36,5[10,3]	n.s.
	2	9	10,4[2,3]		7,5[1,1]		37,7[8,9]	
36	1	11	11,7[3,7]	n.s.	6,7[1,0]	n.s.	45,0[13,0]	n.s.
	2	9	11,2[3,4]		7,8[1,3]		38,9[9,5]	
37	1	14	13,3[6,5]	n.s.	8,0[1,7]	n.s.	40,5[16,3]	n.s.
	2	4	13,8[4,4]		8,1[1,2]		45,4[11,5]	
38	1	12	16,0[4,3]	n.s.	8,0[2,2]	n.s.	38,9[15,0]	n.s.
	2	8	15,7[3,6]		7,2[1,4]		42,7[14,3]	
39	1	11	16,5[5,3]	n.s.	7,3[1,3]	n.s.	44,4[16,2]	n.s.
	2	9	15,9[4,0]		7,5[1,6]		42,2[9,0]	
40	1	12	16,7[4,2]	n.s.	6,9[1,8]	n.s.	44,7[18,7]	n.s.
	2	8	19,5[7,0]		7,4[1,4]		45,9[16,2]	
41	1	7	15,9[4,7]	n.s.	6,9[2,8]	n.s.	51,3[24,1]	n.s.
	2	13	18,5[5,4]		7,4[1,6]		42,2[13,4]	
42	1	7	16,3[3,3]	n.s.	6,1[0,9]	s.	40,1[23,2]	n.s.
	2	13	18,6[5,9]		7,8[1,3]		47,7[21,6]	

Tab. 9 : Vergleich der E_3-, HPL und 5α-DHP-Werte bei den Müttern mit männlichen Feten (Gr. 1) und weiblichen Feten (Gr. 2)
SSW = Schwangerschaftswoche, n = Anzahl der Proben
n.s. = nicht signifikant, s. = nach dem U-Test signifikant

Feten auf die Hormonwerte festgestellt werden, wenngleich sich für die 29. SSW ein signifikant höherer Wert bei den männlichen Feten ergab.

Für das HPL konnte ebenfalls kein eindeutiger Unterschied für die beiden Geschlechter ausgemacht werden, obwohl sich hier in drei Schwangerschaftswochen signifikant höhere Werte für weibliche Feten zeigten.

Auch das 5α-DHP scheint vom Geschlecht des Feten nicht beeinflußt zu werden. Hierbei fanden sich lediglich in der 25. und 31. SSW signifikant höhere Werte für das männliche Geschlecht. Allenfalls kann ein leichtes Überwiegen höherer Hormonspiegel für die männlichen Feten beobachtet werden.

5. DISKUSSION

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Serumspiegel des 5α-Pregnandion von schwangeren Frauen zu bestimmen und den Konzentrationsverlauf in Abhängigkeit vom Gestationsalter zu verfolgen. Hierfür wurde ein Kollektiv untersucht, bei dem die Östriol- bzw. HPL-Werte im Normbereich lagen, was auf eine ausreichende Funktion der fetoplazentaren Einheit schließen ließ.

Die Konzentrationen des 5α-DHP stiegen ab der 25. Schwangerschaftswoche kontinuierlich von einem Wert von ca. 10 ng/ml an. Mit der 40. SSW wurde ein Konzentrationsplateau von ca. 45 ng/ml erreicht.

STOA et al. bestimmten 1975 ebenfalls das 5α-Pregnandion im Plasma schwangerer Frauen, wobei die Trennung von dem kreuzreaktiven Progesteron in diesem Fall dünnschichtchromatographisch erreicht wurde. Die Ergebnisse der Autoren waren mit den hier gefundenen Werten durchaus vergleichbar. Das Konzentrationsplateau der 40.-42. SSW lag jedoch nicht bei 45 ng/ml, sondern bei ca. 57 ng/ml. Der von STOA et al. gefundene Konzentrationssprung von 24 auf 37 ng/ml zwischen der 30. und 31. SSW konnte bei unserer Untersuchung nicht festgestellt werden.

Auch MILEWICH et al. beschrieben 1975 für das von ihnen untersuchte Kollektiv ein signifikant rascheres Ansteigen der 5α-DHP-Konzentrationen zwischen der 32. und 36. SSW. Außerdem wurden von diesen Autoren, obgleich sie wie ich die säulenchromatographische Trennmethode von Progesteron und 5α-DHP verwendet hatten, bis auf die 22.-24 SSW sehr viel niedrigere Hormonkonzentrationen gemessen. Auch in der Arbeit von PARKER et al., die ebenfalls die Bestimmungsmethode von MILEWICH et al. anwendeten, wurden 1979 niedrigere Werte bestimmt. Sie lagen durchschnittlich um den Faktor 0,8 tiefer als die hier gefundenen, während die von MILEWICH et al. bestimmten um den Faktor 0,6 niedriger lagen.

Die Gründe für die verschiedenen Konzentrationsverläufe, besonders im Hinblick auf den von STOA et al. und MILEWICH et al. gefundenen Konzentrationssprung könnten in den kleinen Kollektiven der beiden Arbeitsgruppen zu suchen sein. STOA et al. untersuchten von der 27. bis zur 42. SSW nur 57 Proben, während es bei MILEWICH et al. 92 waren.

Außerdem muß erwähnt werden, daß in der Arbeit von MILEWICH et al. eine Validitätskurve für die 5α-DHP-Bestimmung in einem Bereich von 0 bis 8 ng/ml beschrieben wurde. Der tätsächliche Meßbereich lag jedoch zwischen 10 und 27 ng/ml, womit der Beweis unterblieb, daß der verwendete Test auch in dem tatsächlich relevanten Konzentrationsbereich ausreichend valiabel war. Hinzu kommt, daß von beiden Autorengruppen genauere Beschreibungen des gewählten Normalkollektivs unterlassen wurden.
Eine weitere Begründung für die abweichenden Ergebnisse könnte in der unterschiedlichen Spezifität des verwendeten Antikörpers liegen.

Interessant erscheint mir auch eine vergleichende Betrachtung des in den letzten Jahren wesentlich genauer untersuchten Progesteron mit seinem Metaboliten 5α-Pregnandion.
STOA et al. beschreiben in der oben schon erwähnten Arbeit 1975, daß die 5α-DHP-Konzentrationen im Durchschnitt 35% von den Progesteron-Konzentrationen der gleichzeitig durchgeführten Untersuchung betrugen. Sie konnten für die beiden Hormone eine positive Korrelation mit r = 0,69 aufzeigen.
Ergebnisse von MILEWICH et al. ergaben 1975 für das Verhältnis von Progesteron zu 5α-DHP einen konstanten Wert von 3,6:1 bis zum Ende der Schwangerschaft. Dies läßt für beide Hormone einen einigermaßen ähnlichen Verlauf während der Schwangerschaft erwarten.

GREIG et al. fanden 1962 einen beschleunigten Anstieg der Progesteron-Konzentrationen um die 34. SSW. DAWOOD berichtete 1976 von einem kontinuierlichen Anstieg des Progesteron, der nach der 30. SSW etwas schneller erfolgen sollte.

OTTESEN und LEBECH veröffentlichten 1979 Ergebnisse, die einen signifikanten Anstieg der Werte für die letzten 4 Schwangerschaftswochen zeigten.

Abgesehen von kleinen Unterschieden scheint also gegen Ende der Schwangerschaft eine vermehrte Progesteron-Synthese stattzufinden. Im Gegensatz zu der erwarteten Ähnlichkeit der Konzentrationsverläufe ließ sich in meiner Untersuchung ein entsprechender Produktionsanstieg für das 5α-DHP nicht finden.

Des Weiteren wurde in der Literatur ein deutlicher Abfall des Progesteron kurz vor Beginn des Geburtsvorgangs diskutiert. CSAPO et al. die diesen Progesteronabfall 1971 beschrieben, leiteten die Vermutung ab, es könne hier ein kausaler Zusammenhang mit dem Beginn der Spontangeburt bestehen. Das Absinken des die Gebärmutter vor Kontraktionen schützenden Progesterons habe eine verstärkte Kontraktionstätigkeit zur Folge. Auch TURNBULL et al. fanden 1974 einen signifikanten Abfall des Progesterons kurz vor der Geburt.

Demgegenüber berichtete DAWOOD 1976, daß die Mittelwerte der Progesteronkonzentrationen bei 331 Normalschwangerschaften bis zur 40. SSW kontinuierlich anstiegen und in der 41. und 42. SSW im Wesentlichen konstant blieben.

OTTESEN und LEBECH fanden 1979 sogar einen signifikant rascheren Anstieg des Serumprogesterons in den letzten 5 Schwangerschaftswochen. MATHUR und Kollegen, die 1980 die Progesteronkonzentrationen im Serum von 30 normal verlaufenden Schwangerschaften während der letzten 8 Schwangerschaftswochen untersuchten, konnten keine signifikanten Veränderungen der Progesteronplasmaspiegel ausmachen.

In der vorliegenden Arbeit konnte auch für das 5α-DHP kein Anstieg oder Abfall der Hormonkonzentrationen unmittelbar vor der Geburt festgestellt werden.

Ein erschwerender Faktor für einen Vergleich der hier beschriebenen Ergebnisse mit denen der Literatur könnte noch auf einem weiteren Umstand beruhen, nämlich den von einigen Autoren gefundenen tageszeitlichen Konzentrationsschwankungen.Wenngleich GREIG et al. 1962 nur Tagesschwankungen von geringem Ausmaß feststellten, vielleicht aufgrund der damals noch wesentlich ungenaueren Untersuchungsmethoden, fanden KLOPPER und SHAABAN 1974 Konzentrationsschwankungen von 22% an einem Tag. DAWOOD berichtete 1976 von einer maximalen Variation von 25% pro Tag, was ihn in einer Arbeit von 1976 zu dem Schluß kommen ließ, daß das Progesteron infolge seiner großen Streubreite kein verläßlicher Indikator für die Plazentafunktion sei.

Die sich in meiner Arbeit ergebende höhere Varianz des 5α-Pregnandion im Vergleich zu den beiden anderen Hormonen, Östriol und HPL, könnte somit ebenfalls mit den für das Progesteron gefundenen Tagesschwankungen erklärt werden.

Bezüglich der Mittelwerte des HPL und Östriols ist zu erwähnen, daß die HPL-Werte erwartungsgemäß etwas oberhalb der 50%-Percentile des Gesamtkollektivs verliefen, während die Östriol-Werte ab der 30. SSW deutlich darunter lagen. Dies könnte durch den Umstand erklärt werden, daß die in der Universitätsfrauenklinik verwendete Normwerttabelle 1977 erstellt wurde, mein Normalkollektiv hingegen aus dem Patientengut der Jahre 1978 - 1980 zusammengesetzt ist. Möglicherweise sind also bestimmungstechnische Veränderungen in dieser Zeit für die gefundenen Ergebnisse verantwortlich.

Die Ergebnisse der Untersuchung des Alterseinflusses auf die Hormonspiegel ließen keine Unterschiede zwischen der Altersgruppe < 30 und ≥ 30 Jahre erkennen. In der Literatur ließen sich hierzu keine widersprüchlichen Befunde finden.

Die für die Parität angedeutete Tendenz zu höheren Östriolwerten bei den Primiparae steht im Widerspruch zu der 1973 veröffentlichten Arbeit von MASSON, der keine Unterschiede fand. Der Autor untersuchte allerdings lediglich die Hormonspiegel von Schwangeren unter 30 Jahren. Außerdem muß erwähnt werden, daß die Werte nicht aus einem statistisch unabhängigen Kollektiv stammten, sondern daß die Hormonkonzentrationen von 12 Primiparae und 13 Multiparae über einen Zeitraum von 30 SSW bestimmt wurden.

Obwohl für die letzten 6 Schwangerschaftswochen eine Tendenz des HPL's zu höheren Werten gefunden wurde, läßt dies keinen Schluß auf eine Korrelation zwischen Parität und HPL-Hormonspiegel zu. Dies bestätigt die Ergebnisse der Arbeit von GORDON et al. 1977.

Ein wirklich signifikanter Einfluß der mütterlichen Parameter auf die 3 Hormone ließ sich also für das von mir untersuchte Kollektiv nicht feststellen. Um diese Frage endgültig zu klären, müßten allerdings Daten aus einem Gesamtkollektiv ausgewertet werden, das auch pathologisch verlaufende Schwangerschaften beinhaltet.

Um die Ergebnisse zum Einfluß kindlicher Parameter auf die Hormonkonzentrationen richtig einordnen zu können, muß nochmals vorausgeschickt werden, daß nach der Definition des hier untersuchten Normalkollektivs nur Seren von Schwangeren bestimmt wurden, die ein normalgewichtiges Kind geboren hatten.

Somit hatten stark untergewichtige Kinder keinen Einfluß auf die Statistik. Daraus ergibt sich daß, wenn überhaupt, dann nur geringe Unterschiede für die Hormonkonzentrationen zu erwarten waren. Dies bestätigen die Ergebnisse meiner Untersuchungen.

Keines der Hormone zeigte eine Korrelation zum Geburtsgewicht und der Körperlänge des Neugeborenen.
Auch MASSON fand 1973 keine Abhängigkeit zwischen den Östriol-Spiegeln der Mutter und dem Geburtsgewicht. Er hatte jedoch ebenfalls keine Seren von Müttern berücksichtigt, die später untergewichtige Kinder gebaren. HAY und LORSCHEIDER fanden 1976 eine positive Korrelation zwischen Geburtsgewicht und dem letzten E_3-Wert normaler Schwangerer vor Geburtsbeginn.

Da der HPL-Wert eine Aussage über die Plazentafunktion und -größe ermöglicht, das Plazentagewicht wiederum mit der Größe des Neugeborenen korreliert ist, sollte man auch eine Abhängigkeit zwischen dem HPL-Spiegel und der Wachstumsentwicklung erwarten. Die in der Literatur bekannten Untersuchungen ergaben jedoch nur eine niedrige Korrelation zwischen HPL-Konzentration und Geburtsgewicht (vgl. KALTENBACH et al. 1977 und GORDON et al. 1977).

Nach meinen Ergebnissen war auch das 5α-Pregnandion sowohl vom Gewicht als auch von der Länge des Neugeborenen unabhängig.
Die Literatur enthält hierüber bisher keine Angaben, lediglich für das Progesteron wurden derartige Untersuchungen angestellt. So fanden GREIG et al. 1962 bei Kindern, die unter 3250 g wogen, Progesteronwerte im unteren Normbereich im mütterlichen Blut. Im Gegensatz dazu berichtete DAWOOD 1976, daß das Gewicht des Neugeborenen keinen Einfluß auf die Progesteronkonzentrationen im mütterlichen Blut habe.

Für das Geschlecht des Neugeborenen ergab sich ebenfalls kein Hinweis auf unterschiedliche Hormonwerte für eines der beiden Geschlechter.
In einer gleichlaufenden Studie wurden die 5α-DHP-Konzentrationen im arteriellen und vernösen Nabelschnurblut bestimmt. Hier fand sich ein deutlich höherer Hormonspiegel bei männlichen Neugeborenen. Daß dieser Unterschied im peripheren mütterlichen Blut nicht gefunden wurde, könnte zum einen darauf beruhen, daß das 5α-DHP im mütterlichen Organismus eine starke Verdünnung erfährt (vgl. GREIG et al. 1962), zum anderen könnte ein Kompensationsmechanismus vorhanden sein, der zum Ausgleich der Konzentrationsunterschiede führt.

6. ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wurde eine Extraktionsmethode und ein Radioimmunoassay für das 5α-Pregnandion erarbeitet und der hierfür verwendete Antikörper charakterisiert.

   Der Korrelationskoeffizient der Validitätskurve betrug 0,99, die Intraassayvarianz 5,3%, die Interassayvarianz 12%.

2. Die Bestimmung des 5α-Pregnandion im Serum normaler Schwangerer ergab einen kontinuierlichen Anstieg von 10,4 ng/ml in der 22. SSW auf 45,1 ng/ml in der 40. SSW.

3. Bei Untersuchungen des Einflusses mütterlicher Parameter auf die Hormonkonzentrationen ergab sich für das Alter keine Abhängigkeit der Hormonkonzentrationen. Bezüglich der Parität wurde für das HPL bei einigen höheren Schwangerschaftswochen ein signifikant höherer Hormonspiegel bei Primiparae gefunden.

   Die anderen Hormone zeigten zumindest in der Tendenz dasselbe Ergebnis.

4. Für die kindlichen Parameter Geburtsgewicht, Länge und Geschlecht ließ sich keine Korrelation zu einem der 3 untersuchten Hormone finden.

7. LITERATURVERZEICHNIS

CSAPO, A.J., E. KNOBIL, H. J. VAN DER MOLEN and W.G. WIEST: Peripheral plasma progesterone levels during human pregnancy and labor.
Am. J. Obstet. Gynecol. 110, 630-632 (1971).

DAWOOD, M.Y.: Circulating maternal serum progesterone in high-risk pregnancies.
Am. J. Obstet. Gynecol. 125, 832-840 (1976).

EVERETT, R.B., R.J. WORLEY, P.C. MACDONALD and N.F. GANT: Modifications of vascular responsiveness to angiotensin II in pregnant women by intravenously infused 5α-Dihydroprogesterone.
Am. J. Obstet. Gynecol. 131, 352-357 (1978).

FRIEDBERG, V.: Über die perinatale Letalität der Neugeborenen bei Präeklampsie.
Geburtsh. u. Frauenheilk. 25, 455, (1965).

GORDON, Y.B., J.G. GRUDZINSKAS, J.D. LEWIS, D. JEFFREY and A.T. LETCHWORTH: Circulating levels of pregnancy-specific beta-glykoprotein and human placental lactogen in the third trimester of pregnancy: their relationship to parity, birth-weight and placental weight.
Brit. J. Obstet. Gynaecol. 84, 642-647 (1977).

GREIG, M., M.G. COYLE, W. COOPER and J. WALKER: Plasma progesterone in mother and foetus in the second half of human pregnancy.
J. Obstet. Gynaecol. Brit. Comm. 69, 772-776 (1962).

HAY, D.M. and F.L. LORSCHEIDER: Serum oestriol in normal pregnancy.
Brit. J. Obstet. Gynaecol. 83, 118-123 (1976).

KALTENBACH, F.J., R. SCHMITT, W. DIETRICH: Quantitative Untersuchungen der menschlichen Plazenta bei normaler Schwangerschaft und EPH-Gestose in Beziehung zum HPL-Serumspiegel im letzten Trimenon der Schwangerschaft.
Arch. Gynäk. 222, 249-264 (1977).

KLOPPER, A. and M.M. SHAABAN: Variability of fetoplacental steroids in maternal plasma in late pregnancy.
Obstet. Gynecol. 44, 187-193 (1974).

LANG, N., O. BELLMANN, M. HANSMANN, W. NOCKE und M. NIESEN: Klinik und Diagnostik der intrauterinen Mangelentwicklung.
Fortschr. Med. 95, 482-492 (1977).

LAUZON, S. de, N. CITTANOVA, B. DEFOSSES and M.F. JAYLE: in "Radioimmunoassay of steroidhormones",S. 55-61.
Ed.: D. Gupta, Verlag Chemie, Weinheim (1975).

MASSON, G.M.: Plasma estriol in normal and preeclamptic multiple pregnancies.
Obstet. and Gynec. 42, 568-573 (1973).

MATHUR, R.S., S. LANDGREBE and H.O. WILLIAMSON: Progesterone, 17-hydroxyprogesterone, estradiol, and estriol in late pregnancy and labor.
Am. J. Obstet. Gynecol. 136, 25-27 (1980).

MILEWICH, L., C. GOMEZ-SANCHEZ, J.D. MADDEN and P.C. MACDONALD: Isolation and Characterization of 5α-Pregnane-3,20-dione and progesterone in peripheral blood of pregnant women.
Gynecol. Invest. 6, 291-306 (1975).

OTTESEN, B. and P.E. LEBECH: Plasma progesterone, serum estriol and plasma HPL determinations during the last trimester to detect changes before spontaneous labor.
Acta Obstet. Gynecol. Scand. 58, 420-427 (1979).

PARKER, C.R., R.B. EVERETT, J.G. QUICK, P.J. WHALLEY and N.F. GANT: Hormone production during pregnancy in the primigravid patient.
I. Plasma levels of progesterone and 5α-Pregnane-3,20-dione throughout pregnancy of normal women and women who developed pregnancy-induced hypertension.
Am. J. Obstet. Gynecol. 135, 778-782 (1979).

RODECK, C.H., S. CAMPBELL AND S. BISWAS: Maternal plasma alpha-fetoprotein in normal and complicated pregnancies. Brit. J. Obstet. Gynaecol. 83, 24-32 (1976).

SAMMOUR, M.B., H. EL-KABARITY and A.S. KHALIFA: Progesterone therapy in pre-eclamptic toxaemia. Acta Obstet. Gynecol. Scand. 54, 195-202 (1975).

STOA, K.F. and A. BESSESEN: Identification and quantitation of 5α-Pregnandione in human pregnancy plasma. J. Steroid Biochem. 6, 21-25 (1975).

TURNBULL, A.C., A.P.F. FLINT, J.Y. JEREMY, P.T. PATTEN, M.J. KEIRSE and A.B.M. ANDERSON: Significant fall in progesterone and rise in oestriol levels in human peripheral blood before onset of labor. Lancet 1, 101-103 (1974).

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. A.E. Schindler sei an dieser Stelle für das interessante Thema und die Betreuung der Arbeit herzlich gedankt.

Dem Laborleiter Herrn Diplomchemiker M. Zwirner, Frau Erna Mark und besonders Frau Christa Veit danke ich für die tatkräftige Unterstützung.

LEBENSLAUF

Name:	Florian C. Bopp
geboren:	29. Juli 1954 in Stuttgart
Vater:	Dr. med. W. Bopp, Facharzt für innere Krankheiten
Mutter:	Lieselotte Bopp, Krankengymnastin
Schule:	vom April 1961 bis Juni 1974 Freie Waldorfschule am Kräherwald in Stuttgart 19.6.1974 außerordentliche Reifeprüfung
Wehrdienst:	1.7.74 - 30.9.75 Grundwehrdienst mit Ausbildung zum Sanitäter
Studium:	November 1976 Beginn des Medizinstudiums an der Università degli Studi, Mailand Wechsel an die Ruhr-Universität Bochum in das 3. vorklinische Semester im April 1978 Ärztliche Vorprüfung im Wintersemester 1978/79 Wechsel an die Eberhard-Karl's-Universität Tübingen im April 1979 1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung im Wintersemester 1979/80 2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung im Sommersemester 1982 3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung am 26. Oktober 1983
Dissertation:	Februar bis September 1981 in der Medizinischen Fakultät der Universität Tübingen unter Leitung von Herrn Prof. Dr. med. A.E. Schindler